Vergleichende Untersuchungen zum Nachweis der Phenothiazine Promethazin (Atosil) und Chlorpromazin (Megaphen) im Urin

von

Wolfgang Wiesmeier

aus Dürrwangen

1964

1964 [illegible]

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin
und Kriminalistik

Direktor : Prof. Dr. med. et phil. E. Weinig

Vergleichende Untersuchungen zum Nachweis der Phenothiazine Promethazin (Atosil) und Chlorpromazin (Megaphen) im Urin

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

Vorgelegt von

Wolfgang W i e s m e i e r

aus Dürrwangen

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Dekan: Professor Dr. W.D. Keidel
Referent: Priv.-Doz. Dr.med. Dr.phil.nat.
M. Geldmacher - v. Mallinkrodt
Korreferent: Professor Dr.Dr. E, Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 3. November 1964

Vergleichende Untersuchungen zum Nachweis der Phenothiazine, Promethazin (Atosil) und Chlorpromazin (Megaphen) im Urin.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
I) Einführung der Phenothiazine in die Medizin	6
II) Bedeutung der Phnothiazine	7
1) Pharmakologie und Toxikologie	7
2) Anwendungsgebiete in der Medizin	10
3) Löslichkeit der Phenothiazine	11
III) Stoffwechsel und chemische Umsetzungen im Organismus	13
1) Allgemeine Oxydationsprodukte der Phenothiazine	13
2) Ergebnisse aus Tierversuchen nach Aufnahme von Phenothiazinen	13
3) Untersuchungen beim Menschen nach Einnahme von Phenothiazinen	18
a) Resorption und Verteilung im Körper	18
b) Abbau und Ausscheidung	19
IV) Nachweisverfahren für Chlorpromazin (Megaphen) und Promethazin (Atosil)	24
1) Urinfarbteste nach Forrest	25
Nachweis für	
a) Chlorpromazin	26
b) Promazin und Mepazin	26
c) Thioridazin	27
d) Imipramin	27
e) Phenothiazine allgemein	28

Seite

2) Chromatographische Verfahren 29

a) Papierchromatographie 29

b) Dünnschichtchromatographie 38

3) Spektrophotometrische Bestimmung 43

a) Spektrophotometrische Bestimmung über gefärbte Schwermetallkomplexe 43

b) Spektrophotometrische Bestimmung über gefärbte Komplexe mit Bromthymolblau 44

c) UV - Spektrophotometrie nach Burger u. Berninger 45

4) Suchtmittelnachweis für basische Alkaloide nach Cronheim - Ware in der Modifikation nach Weinig - Schmidt 50

V) Problemstellung 52

VI) Eigene Untersuchungen mit Urinproben nach einmaliger Phenothiazin - Einnahme 55

A) Ergebnisse nach Einnahme von Promethazin - Hydrochlorid (Atosil) 55

1) Urinfarbtest nach Forrest 55

2) Suchtmittelnachweis für basische Alkaloide nach Cronheim - Ware in der Modifikation nach Weinig - Schmidt 58

3) Papierchromatographisches Verfahren nach Gg. Schmidt 59

4) UV - Spektrophotometrie nach Burger und Berninger 60

5) Elution der Flecken aus dem Papierchromatogramm und spektrophotometrischer Nachweis 68

6) Versuche mit Dünnschichtchromatographie 70

Seite

B) Ergebnisse nach Einnahme von Chlorpromazin
(Megaphen) 74

1) Urinfarbtest nach Forrest 74

2) Suchtmittelnachweis für basische Alkaloide nach Cronheim und Ware in der Modifikation nach Weinig-Schmidt 76

3) Papierchromatographisches Verfahren nach Gg. Schmidt 76

4) UV - Spektrophotometrie nach Burger und Berninger 77

5) Elution der Flecken aus dem Papierchromatogramm und spektrophotometrischer Nachweis 79

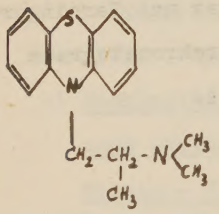
VII) Diskussion der Ergebnisse 79

VIII) Zusammenfassung 86

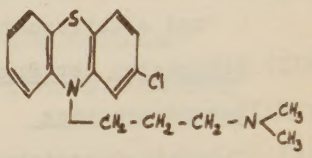
IX) Literaturverzeichnis 88

Vergleichende Untersuchungen zum Nachweis der Phenothiazine Promethazin (Atosil) und Chlorpromazin (Megaphen) im Urin

Promethazin und Chlorpromazin sind Derivate des Phenothiazins.



Promethazin – Hydrochlorid (Atosil)



Chlorpromazin (Megaphen)

I) Einführung der Phenothiazine in die Medizin

Das Phenothiazin, früher häufig auch als Thiodiphenylamin bezeichnet, wurde anfänglich nur als Insektizid und Pflanzenschutzmittel verwendet. 1938 führte man es als Anthelmintikum im Ausland in die Veterinärmedizin ein und gebrauchte es bei Pferden, Schweinen, Schafen, Ziegen und einigen anderen Tierarten. In der Humanmedizin wurde es anfänglich als Harndesinfizienz und Wurmmittel verwendet, doch konnte es sich hier wegen verschiedener Nebenwirkungen nicht durchsetzen, sodaß dafür andere Mittel an seine Stelle traten. Es ist nicht geklärt, ob die damaligen Schäden auf eine Verunreinigung der Präparate zurückzuführen sind. (Ottmann 1952/54)

II) Bedeutung der Phenothiazine

1) Pharmakologie und Toxikologie

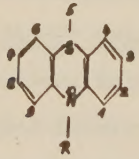
Der Grundkörper, das Phenothiazin, ist seit langem bekannt.

Grundkörper des Phenothiazins

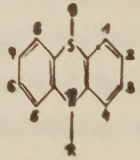
Die Phenothiazinderivate gelangten in den Blickpunkt des Interesses, als auf der Suche nach Substanzen, die die Histaminwirkung im Organismus unterdrücken können, die Entwicklung moderner Antihistaminika begann und zum Promethazin führte. (Schenker und Herbst 1963). Die Phenothiazinderivate sind Antihistaminika und diesen verwandte Stoffe mit neuro- und psychoplegischer Wirkung (Burger und Berninger 1958/59). Vom pharmakologischen Standpunkt aus gilt eine Substanz als neuroleptisch oder -plegisch, wenn im Tierversuch Temperatursenkung, Potenzierung von Narkotika, Hemmung der Spontanmotilität und Beeinflussung bedingter Reflexe nachweisbar sind. (Schenker und Herbst 1963). Die Phenothiazine wirken dämpfend sowohl auf das ZNS als auch auf das Vegetativum, "wobei die Senkung der Hirnrindenerregbarkeit mit der gleichzeitigen Förderung erregungshemmender Vorgänge einhergeht". Dazu kommt ein inhibitorischer Effekt speziell auf das psychomotorische und emotionelle Geschehen, ohne daß aber eine Aktivitätsabstumpfung die Folge wäre. Außerdem entfalten die Pheno-

thiazine sedativ- hypnotische, antiemetische, antipyretische, spasmolytische und eupnoische Wirkungen und steigern die Ansprechbarkeit auf dämpfend~ narkotisch, analgetisch und hypnotisch wirkende Substanzen. Im Hinblick auf die potenzierte Narkose seien vor allem die stoffwechselsenkende Wirkung einiger Phenothiazinderivate und die potenzierenden Effekte auf verschiedene Pharmaka (Steigerung der analgetischen und temperatursenkenden Wirkung von Pyramidon) erwähnt. (Schenker und Herbst 1963).

Man unterscheidet eine Substitution am Stickstoff (Seitenkette) und eine Ringsubstitution.Die Ringsubstitution in einem oder in beiden Benzolringen des Phenothiazins ist nur in 2-Stellung von pharmakologischen Interesse (im deutsch-franz. Schrifttum entspricht dies der 3-Stellung).



(angloamerikanisch)



(deutsch - französisch)

Nach Luchmann (1961) erhalten die Phenothiazine ihre pharmakologischen Eigenschaften durch die Seitenketten bezw. Substituenten und nicht durch die chemische Grundstruktur des Phenothiazinkernes.Durch die verschiedenartigen Seitenketten lassen sich die pharmakologischen Eigenschaften weitgehend beeinflussen und einzelne Wirkungskomponenten abschwächen oder besonders in den Vordergrund stellen.

Unter den mit heterocyclischen Ringsystemen substituierten Phenothiazinverbindungen werden einige Substanzen gefunden, die in Verbindung mit einer bestimmten Ringsubstitution einzelne Wirkungsrichtungen der Phenothiazinverbindungen besonders hervortreten lassen. Sie bewährten sich in der klinischen Prüfung und stellen neben dem anfangs entwickelten Promethazin und Chlorpromazin wichtige Präparate unseres Arzneischatzes dar.

Die weite Verbreitung und der große Verbrauch der zahlreichen Phenothiazinderivate bringen es zwangsläufig mit sich, daß es durch Unachtsamkeit,Unkenntnis,Verwechslung oder durch Suizidversuche zu Überdosierungen und Vergiftungen kommt.Vor einigen Jahren wurden einige Fälle von Überdosierungen bekannt bei Kleinkindern,die phenothiazinhaltige Wurmschokolade bekommen hatten. (Ottmann 1952, Haase 1956). Vergiftungen mit tödlichem Ausgang sind selten. Die Toxizität (DL 50) ist abhängig von der Applikationsart.

Als Nebenwirkungen werden bei Behandlung mit Phenothiazinpräparaten manchmal neben allergischen Hautreaktionen auch Urtikaria verbunden mit Gelenkschmerzen und manchmal auch Agranulozytose beobachtet.(Schenker und Herbst 1963).

Durch Lichteinwirkung, besonders Sonnenlicht, nehmen die Allergien an Häufigkeit zu. Die photosensibilisierende Wirkung von Chlorpromazin wurde experimentell und klinisch untersucht, da dieses Derivat besonders starke Effekte zeigte. So verursachte Chlorpromazin bei einer täglichen

Dosierung ab 300 mg manchmal schon photodynamische Reaktionen, was durch den sogenannten belichteten Läppchentest, bei dem Substanz in einer Verdünnung von 1 - 3 % 24 Stunden auf der Haut belassen wurde, worauf sich eine langdauernde Sonnenexposition anschloss, bewiesen werden konnte. Chlorpromazin kann auch sensibilitätssteigernd auf anderweitig ausgelöste oder latente Allergien (Nahrungsallergien) wirken. Allergie kann durch direkten Umgang mit dem Medikament (Verteilung von Tabletten usw.) auftreten. Nach längerem Kontakt mit diesem Medikament zeigte 60% einer Gruppe von Pflegepersonal Überempfindlichkeitserscheinungen (Schenker und Herbst 1963).

Im Falle einer Überdosierung zeigten sich Symptome an Kreislauf und Herz, wie Koma, erniedrigter Blutdruck, Areflexie, ausgeprägte Tachykardie, cyanotische Lippen, Miosis, manchmal mit Andeutung bronchopneumonischer Herde und normalem Laborbefund. (Wutschke 1959/60, Fryde 1963) Dosen von weit über 1000 mg wurden zum Teil eingenommen. Da es für Phenothiazine kein spezifisches Antidot gibt, wurde zwangsläufig manche Intoxikation ganz ohne Therapie überstanden. Die Beziehung von toxikologischer Wirkung zur eingenommenen Dosis erwies sich als ziemlich unzuverlässlich.(Beani, Pepen, Mannaioni 1959/60)

2) Anwendungsgebiete in der Medizin

Die Phenothiazinverbindungen haben in den letzten Jahren zunehmend bei den verschiedensten Krankheiten Anwendung

gefunden und man wendet sie jetzt in allen Zweigen der Medizin an. Das Hauptanwendungsgebiet ist die Psychiatrie. Hier gelingt oftmals eine Beruhigung des Patienten, wobei sich bei konsequenter Anwendung eine "Harmonisierung der Persönlichkeit" einstellt. (Burger und Berninger 1958/59) Aber die Phenothiazine werden auch in der inneren Medizin angewendet und sie beeinflussen endokrine Drüsen, Blutdruck, Kreislauf, Verdauungstrakt, Nierenfunktion und Atmung. Die vorliegenden Erfahrungen reichen von einer Verwendung bei speziellen Einzelgebieten, wie z.B. Polyarthritis oder Parkinsonismus, über eine allgemeine Prämedikation bis zu den umfassenden und neuartigen Gebieten, die mit den Begriffen "potenzierte Narkose" und "künstliche Hypothermie" umrissen sind. Sie sind schließlich auch noch von Bedeutung in der Frauen- und Kinderheilkunde und werden bei den verschiedensten Erscheinungen der Haut-, HNO- und Augenkrankheiten angewendet. (Schenker und Herbst 1963)

3) Löslichkeit der Phenothiazine

Phenothiazine sind basische Substanzen, als solche ist ihr Verteilungsgleichgewicht zwischen einer wäßrigen und einer organischen Lösungsmittelphase abhängig vom ph der wäßrigen Phase. In saurem Milieu liegen die Phenothiazine als mehr oder weniger dissoziierte Salze vor, deren Löslichkeit im Wasser meistens größer ist, als die in organischen Solventien. Ändert sich das Milieu nach der alkalischen Seite, so geht die Dissoziation der Phenothia-

zine zurück, ebenso ihre Löslichkeit in Wasser. Dafür steigt die Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln stark an. Ist das ph größer als 9, dann liegen die Phenothiazine praktisch vollständig als freie Basen vor, das Verteilungsgleichgewicht liegt dann ganz auf der Seite der organischen Phase. Hier können die Phenothiazine vollständig in das organische Lösungsmittel überführt werden. Im sauren Bereich sind die Verhältnisse weniger eindeutig. Salze der Phenothiazine, besonders die Chloride, sind merklich in einigen Solventien löslich. Bei der Extraktion in einem solchen System werden sich die Phenothiazine gemäß ihrer Löslichkeit auf beide Phasen des Systems verteilen. Solche Erscheinungen wurden schon empirisch gefunden. (Burger und Berninger 1958/59).

Untersuchungen zeigten, daß im sauren Bereich in Chloroform eine beträchtliche Löslichkeit der Phenothiazine vorhanden ist, während diese für Äthylacetat und Benzol nur sehr gering ist. Im alkalischen Bereich sind die Phenothiazine in allen 3 Solventien gut löslich.

Verteilung der Phenothiazine in verschiedenen Solvenssystemen :

organische Phase	% der Ph. in 0,5 n HCl verbleibend		$K = \frac{0{,}5\text{ n HCl}}{\text{org. Phase}}$	
	Atosil	Megaphen	Atosil	Megaphen
Butanol	6,5	6,9	0,07	0,07
Chloroform	13,0	14,4	0,15	0,17

organische Phase	% der Ph.in 0,5 n Hcl verbleibend		$K = \frac{0,5\ n\ HCl}{org.Phase}$	
	Atosil	Megaphen	Atosil	Megaphen
Amylacetat	59,0	40,5	1,44	0,68
Benzol	84,0	86,1	5,25	6,20
Äthyläther	92,6	83,7	12,5	5,0
Hexan	94,8	94,8	18,2	18,2

(Burger und Berninger 1958/59)

Bei der Durchführung von papierchromatographischen Untersuchungen zeigte es sich, daß Phenothiazine aus organischen Lösungsmitteln (z.B. Amylacetat) nur unvollständig in Ameisensäure übergehen.Die Extraktion war jedoch vollständig, wenn anstelle der Ameisensäure verdünnte Salzsäure verwendet wurde. (Burger und Berninger 1958/59).

III) Stoffwechsel und chemische Umsetzung im Organismus

1) Allgemeine Oxydationsprodukte der Phenothiazine

Nach Williams (1959) ist eine charakteristische Stoffwechselreaktion der Phenothiazingruppe die Oxydation des Schwefels am Ring, was Sulfoxyde oder Sulfone ergibt.Dies wurde bei der Umsetzung von Chlorpromazin mit Methylen-Blau beobachtet. Eine andere mögliche Reaktion wäre die Hydroxylierung in der 3 oder 7 - Stellung am Ring.

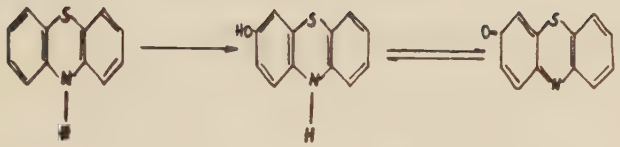
2) Ergebnisse aus Tierversuchen nach Aufnahme von Phenothiazinen

Wie Forrest und Mitarbeiter 1961 berichteten, sind die

Untersuchungen und Nachforschungen über Stoffwechsel und Abbau der Phenothiazine im Körper beim Menschen noch nicht abgeschlossen. Man weiß bis jetzt noch sehr wenig über die chemische Umsetzung im Organismus und stützt sich zum großen Teil auf Vermutungen und Erkenntnisse, die aus Tierversuchen gewonnen wurden. Aus diesen Versuchen, die Klarheit über Stoffwechsel und Ausscheidung der Phenothiazine im Organismus bringen sollten, ergab sich, daß zwar Ausmaß und Richtung der Umsetzungen im Körper von Fall zu Fall verschieden waren, daß aber der Harn in jedem Fall umgesetzte, oxydierte Zwischenprodukte enthielt. (Forrest und Mitarbeiter 1958/59).

Nach Williams (1959) besteht die Möglichkeit, daß das Sulfoxyd das Hauptoxydationsprodukt des Phenothiazins im Verdauungstrakt der Schafe und Kälber ist und nach Resorption in der Leber zu Leukophenothiazon umgewandelt wird.

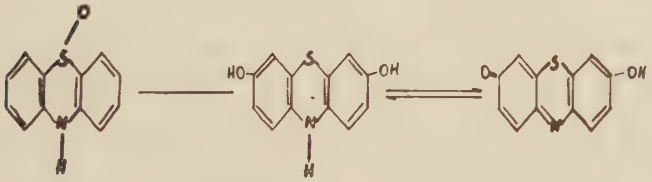
Die Umsetzung der Phenothiazine scheint also folgendermaßen vor sich zu gehen, wobei zu bedenken ist, daß die relativen Menge der Mono- und Di-hydroxyl-Substanzen von der Art des Tieres abhängt :



Phenothiazin

3-Hydroxyphenothiazin
(Leukophenothiazon)

Phenothiazon



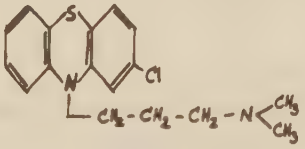
Phenothiazin
Sulfoxyd

3:7-Dihydroxy –
Phenothiazin
(Leukothionol)

Thionol

Chlorpromazin

Der Stoffwechsel des Chlorpromazins ist nicht vollständig bekannt. Als ein Stoffwechselprodukt, das sowohl beim Menschen als auch beim Tier vorkommt, wurde das Chlorpromazin-5-oxyd identifiziert. (Williams 1959)



Chlorpromazin (Megaphen)

Hunde, die oral 1 gr. Chlorpromazin eingenommen hatten, schieden ungefähr 10-14% dieser Dosis in 72 Stunden als Sulfoxyd aus. Das 'Sulfoxyd selbst wird auch noch weiter abgebaut, denn nach einer Sulfoxyd-Injektion wird nur 20-24% unverändert ausgeschieden.Sulfoxyde sind pharmakologisch weniger aktiv als die unveränderten Derivate. (Williams 1959) Neben diesem Sulfoxyd ergab Chlorpromazin noch zwei andere Abbauprodukte, die aber nicht identifiziert werden konnten. Man hält sie für Sulfone.(Williams 1959)
Während Williams die Frage, ob Chlorpromazin im Organismus demethyliert werden könne, noch für ungeklärt hält, haben, wie Schenker und Herbst (1963) berichten, Ross und Mitarbeiter in der Folge zeigen können, daß Ratten markiertes Chlorpromazin zu demethylieren vermögen, wobei die oxydierte Methylgruppe als markiertes Kohlendioxyd nachgewiesen wurde. Der nicht sehr bedeutende Unterschied in der Toxizität

zwischen Chlorpromazin und seinem Sulfoxyd zeigt, daß dieses Stoffwechselprodukt kein eigentliches Entgiftungsprodukt des Chlorpromazins darstellt.

Pacatal

Nieschulz, Hofmann, Popendiker und Tauchert berichteten 1959, daß das Sulfoxyd das Hauptabbau- und Ausscheidungsprodukt des Pacatals (N-methyl-piperidyl-3-methyl-phenothiazin) in vivo sei.
Im Gegensatz dazu vertraten Kleinsorge, Thalmann und Rössner (1959) die Ansicht, die sie durch Tierversuche mit Pacatal als bewiesen ansahen, daß ungefähr 2% der verabreichten Menge als unverändertes Pacatal zusammen mit einem Abbauprodukt B ausgeschieden wird, wobei dieses Abbauprodukt B dem Sulfoxyd entspricht und in den 2% enthalten ist.
Genauere Einzelheiten über Stoffwechsel und Umsetzung des Pacatal konnte Block (1961) nach Versuchen mit radioaktiv markierten Phenothiazinderivaten, die er an Mäuse verfütterte, veröffentlichen. Er kam zu folgenden Ergebnissen :

Die Ausscheidungszeit des Pacatals gegenüber Barbituraten war über 100% verlängert und erst am 3.Tage erschienen die Reste der verabreichten radioaktiven Menge im Harn. Im Gehirn und anderen Organen fanden sich nach ungefähr zwei Stunden, im Blut dagegen schon nach 30 Minuten, die höchste Konzentration. Es folgte ein langsamer Abbau, der sich über mehrere Tage erstreckte.

Durch Versuche an Ratten konnte Block das Ergebnis von Kleinsorge, Thalmann und Rössner bestätigen. Er vermutet, daß das abweichende Ergebnis von Hoffmann,Nieschulz, Popendiker und Tauchert durch nicht oder zu wenig beachtete Oxydationsreaktionen durch Peroxyde (z.B. Äther) im Verlauf der Aufarbeitung zustande gekommen ist. Durch die Radioautographie wurde somit gezeigt, daß nach Gabe von Pacatal an Mäusen und Ratten das Sulfoxyd nicht, wie oft angenommen, das Hauptausscheidungsprodukt ist. Die anderen Substanzen, die den Hauptteil der Ausscheidungsprodukte darstellen, konnten noch nicht identifiziert werden. Das Verhältnis der einzelnen Produkte zueinander blieb auch bei längerer Versuchsdauer gleich.

3) Untersuchungen beim Menschen nach Einnahme von Phenothiazine

a) Resorption und Verteilung

Man kann nicht mit Sicherheit sagen, wieweit die tierexperimentellen Ergebnisse auf den Menschen übertragen werden können.

Schenker und Herbst (1963) weisen darauf hin, daß der Metabolismus des Chlorpromazins beim Menschen und beim Hund nicht derselbe ist. Die meisten Phenothiazinderivate verweilen längere Zeit am Applikationsort. Die Resorption beginnt rasch und hält länger an, sodaß auch bei einer Dauerbehandlung mit hohen Dosen der Plasmaspiegel beim Menschen nicht über 0,4 mg/ml ansteigt. Die relativ niedrigen, aber nur

langsam abnehmenden Blutspiegelwerte lassen eine Fixierung der Phenothiazine in bestimmten Geweben, bezw. in bestimmten Organen vermuten. Hohe Konzentrationen werden gefunden in der Niere, Gehirn und in der Lunge, niedrige Konzentrationen vor allem im Liquor cereprospinalis und in der Muskulatur. Die Kontrolle mit radioaktiven Substanzen ergab eindeutig, daß sich die Phenothiazine im Gehirn und im Blut vorwiegend im Lipoid-Anteil und zu einem kleineren Teil in der Eiweißkomponente finden. (Schenker und Herbst 1963)

b) Abbau und Ausscheidung

Nach peroralen Gaben von ^{35}S- Chlorpromazin wurden nur etwa 20% aus dem Darm resorbiert, denn im Kot konnten 80% der Ausgangsaktivität gefunden werden.
Die schnelle Ausscheidung von Phenothiazinen und ihren Abbauprodukten im Harn wurde von verschiedenen Autoren festgestellt, wobei 10% bezw. 4% des verabreichten Chlorpromazins oder Thioridazins bezw. Mepazins im Harn gefunden wurden. Chlorpromazin und Promazin wurden zu etwa 50% bereits am 1.Tage ausgeschieden, dabei wird oral gegebenes Promazin etwas langsamer als Chlorpromazin ausgeschieden. Im Verlauf von 4 Tagen wurden 47% der Ausgangsaktivität von parenteral applizierten ^{35}S-Chlorpromazin im Urin gefunden.Die Ausscheidung der Chlorpromazin- und Mepazinabbauprodukte kann sich bis zum 6. oder 7. Tag erstrecken. (Schenker und Herbst 1963) Der Abbau im Organismus erfolgt sehr rasch.Sechs Stunden nach

einer Injektion können im Körper und im Urin noch 80%, nach 48 Stunden nur noch 30% einer gegebenen Chlorpromazin- bezw. Mepazingabe festgestellt werden.(Schenker und Herbst 1963 Salzmann, Moran und Brodie (1955) wiesen im menschlichen Urin nach Einnahme von Chlorpromazin (Megaphen) neben unverändertem, nicht oxydierten Chlorpromazin auch dessen Sulfoxyd nach und erfassten beide Bestandteile quantitativ. Die Menge der beiden Substanzen betrug zwischen 5 und 12% der täglichen Medikation. Damit ist ein großer Teil der Stoffwechselprodukte noch ungeklärt.

Diese zwei Substanzen, das unveränderte Chlorpromazin und das Sulfoxyd, ergeben aber nicht die intensive purpurne Farbe, die der Harn eines Patienten, der Chlorpromazin eingenommen hat, mit einigen Schwermetellreagenzien (z.B. Methode nach Forrest) liefert. Unoxydiertes Chlorpromazin zeigt mit dem Testreagenz nach Forrest nur eine rosa Färbung, während sich beim Sulfoxyd damit keine Farbreaktion erzielen läßt.

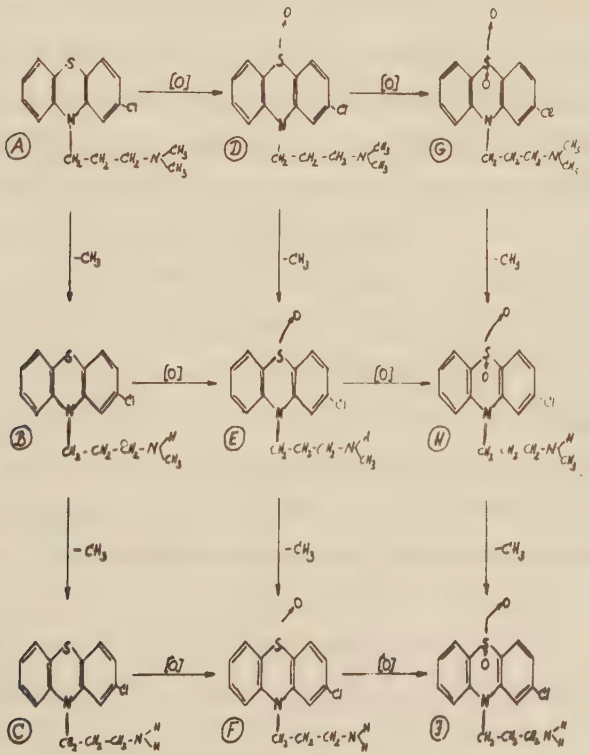
So kann also diese charakteristische purpurne Farbe nur durch ein oder mehrere noch ungeklärte Stoffwechselprodukte anderer Natur bedingt sein, die im Harn ausgeschieden weitaus den größten Teil der Abbauprodukte darstellen müssen. Burger und Berninger (1958/59) konnten ebenfalls, und zwar mit Hilfe der Papierchromatographie, nachweisen, daß bei einer Dosierung bis zu 500 mg Megaphen und Atosil (die Dosierung schwankte zwischen 75 mg und 500 mg) ein Teil der eingenommenen Phenothiazine in ihrer ursprünglichen

Form ausgeschieden wird. Über die Menge und Verteilung der einzelnen Ausscheidungsprodukte machten die beiden Verfasser keine Angaben.

Die Papierchromatographie ermöglichte es, einzelne Chlorpromazinderivate zu trennen und so etwas Klarheit über den oxydativen Angriff auf das Molekül im Organismus zu bekommen.

Eisdorfer und Ellenbogen (1960) ziehen folgende Abbauschritte in Betracht :

Oxydation am S-Atom und Demethylierung an der $N\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}$ -Gruppe des Chlorpromazin-Moleküls.



Oxydation und Demethylierung am Chlorpromazinmolekül.

Danach ist mit einer großen Anzahl möglicher Ausscheidungsprodukte zu rechnen, die sich noch erhöht, wenn außerdem Koppelungsreaktionen ablaufen.
Das Sulfoxyd als erstes Oxydationsprodukt wird zu bisher nicht eindeutig identifizierten Stoffen weiter abgebaut. Salzmann und Brodie (1956) nehmen an, daß es im Magen-Darmtrakt gebunden und weiter abgebaut wird, wobei eventuell Sulfinsäuren auftreten.
Außer dem Sulfoxyd wurden wie beim Tier auch beim Menschen zwei weitere nicht chemisch identifizierte Abbauprodukte festgestellt. Sie enthalten wahrscheinlich noch eine Seitenkette. Williams (1959) vermutet, daß es Sulfone sind. Schenker und Herbst (1963) halten sie für Leuko-phenothiazin-verbindungen . Eine dieser Substanz liegt vermutlich als Glukuronid vor. Diese Anlagerung könnte als Entgiftungsreaktion des Organismus gedeutet werden. Nach Schenker und Herbst (1963) sind Derivate des 3-Hydroxy-bezw. des 3,7-Dihydroxy-phenothiazins vermutlich weitere Abbauprodukte des Chlorpromazins.

Forrest und Mitarbeiter haben das primär entstehende Abbauprodukt von Chlorpromazin, ein freies Radikal, mit physikalisch-chemischen Methoden nachweisen können. Sie formulierten dieses Zwischenprodukt als Thionium-hydroxyd.

Die Farbreaktion dieser Substanz mit verschiedenen Reagenzien ist deutlich verschieden von derjenigen des Chlorpromazins oder des Chlorpromazinsulfoxyds. Das Radikal soll in beträchtlichen Mengen im Harn von Patienten gefundeen werden, die unter Chlorpromazin-medikation stehen.
Ein durch Belichten einer verdünnten, wässrigen Lösung von Chlorpromazin enthaltenes Produkt soll mit dem obigen Radikal identisch sein, und es ist anzunehmen, daß ein durch elektro-chemische Oxydation entstandenes Radikal strukturanalog ist.
Die Abbaureaktionen verschiedener Phenothiazinverbindungen scheinen etwas voneinander abzuweichen. Über den Einfluß der Seitenkette und des Ringsubstituenten auf diese Abbaureaktionen liegen nur wenige Untersuchungen vor. Die Leber scheint beim Abbau des Mepazins eine wichtigere Rolle zu spielen als beim Abbau des Chlorpromazins.
Schenker und Herbst (1963) berichten von sechs verschiedenen Sulfoxyden und weiteren vier bisher nicht identifizierten polaren Metaboliten, die chromatographisch nachgewiesen werden konnten. Ebenso wurde der papierchromatographische Nachweis dafür erbracht, daß bei einer täglichen Chlorpromazingabe von 100-400 mg im Urin der Patienten 1 bis 20% des verabreichten Medikaments wieder ausgeschieden werden. Unverändertes Chlorpromazin wurde zu weniger als 1% ausgeschieden. Die Menge des ausgeschiedenen Sulfoxyds ist etwa 10 x größer als die des unveränderten Chlorpromazins.

Wird die Kur abgebrochen, so sind nach Angaben der beiden Autoren fünf Tage später im Urin keine Phenothiazin-abkämmlinge mehr nachweisbar.
Diese Feststellung stützt sich vermutlich nur auf die papierchromatographische Nachweismethode.
Wie Schenker und Herbst berichten, haben Allgen und Mitarbeite die Ausscheidung von Methoxypromazin im Harn von Patienten spektrophotometrisch und papierchromatographisch untersucht. Als wichtigstes Abbauprodukt wurde das Methoxypromazinsulfoxyd gefunden. Daneben waren unverändertes Methoxypromazin und ein bis drei nicht identifizierte Abbauprodukte nachweisbar. Diese letzteren sollen möglicherweise Konjugate sein.
Im Verlauf der neuesten Untersuchungen konnte als weiterer Metabolit von Chlorpromazin das Chlorpromazin-N-oxyd im menschlichen Harn papierchromatographisch nachgewiesen werden.(Schenker und Herbst 1963)

IV) Nachweisverfahren für Chlorpromazin (Megaphen) und Promethazin (Atosil)

In letzter Zeit haben besonders leicht und rasch durchführbare Reaktionen zum Nachweis von Phenothiazinderivaten im Urin große Bedeutung erlangt. Man ist bestrebt, die Phenothiazinderivate und ihre Abbauprodukte ohne vorherige Isolierung direkt in Urinproben nachzuweisen und benützt dazu u.a. gewisse Farbreaktionen, die nach Zugabe einer

Reihe von Reagenzien auftreten. Diese Reaktionen dienen einerseits zur Überwachung der regelmäßigen Einnahme der Medikamente und anderseits zur Kontrolle der Minimaldosis während Erhaltungsbehandlungen.
Es lassen sich in der Literatur viele Methoden finden, von denen sich bestimmte nur für einzelne, andere wieder für die Mehrzahl der in der Therapie verwendeten Phenothiazinderivate eignen. Es ist nicht immer möglich, mit Hilfe dieser Farbreaktionen einzelne Phenothiazinabkömmlinge voneinander zu unterscheiden, und auch die quantitativen Bestimmungen liefern oft ungenaue Resultate. Im Laufe der Zeit bildeten sich aus der Vielzahl der beschriebenen Nachweismethoden einige Verfahren heraus, die geeignet erscheinen, etwas genauere Angaben über Art und aufgenommener Menge des Medikamentes in verhältnismäßig kurzer Zeit ohne größeren Aufwand an Personal und Apparatur zu geben. Gewisse Unsicherheiten und Fehlerquellen in diesen Angaben haben wahrscheinlich ihren Grund in der individuellen Verschiedenheit der Abbauwege und Ausscheidung und werden wohl nie ganz vermieden werden können.

1) Urinfarbteste nach Forrest

Forrest und Mitarbeiter (1958/59) berichteten in verschiedenen Veröffentlichungen über ein Verfahren zur qualitativen und quantitativen Bestimmung von Phenothiazinen bezw. ihren Abbauprodukten im Urin. Die fünf vorgeschla-

genen Methoden scheinen den praktischen Erfordernissen sehr weitgehend zu entsprechen und können auch von Hilfskräften leicht durchgeführt werden. Alle Reagenzien enthalten verschiedenen Schwermetallsalze in Säuren und die drei empfindlichsten sind geeignet für den Nachweis von so geringen Mengen wie etwa 1 Gamma des Medikaments in 1 cm^3 Harn. Insgesamt werden fünf Reaktionen angegeben (FR_1, FR_2, ...FR_5), wobei die fünfte (FR_5) den Gruppennachweis für praktisch alle Phenothiazine darstellt und am empfindlichsten ist.

Für die Farbreaktion sind sehr reaktionsfähige, noch ungeklärte Phenothiazin-abbauprodukte verantwortlich, die im Urin ausgeschieden werden. Weder unabgebautes Phenothiazin noch das Sulfoxyd oder das Sulfon ergeben unter den Testbedingungen diese Farbreaktionen.

Forrest-Reaktion Nr.1 ist geeignet für den Nachweis von Chlorpromazin.

Das Reagenz besteht aus :

20 Teilen 5% Eisenchloridlösung und

80 Teilen 10% Schwefelsäure

1 cm^3 Urin wird mit 1 cm^3 Reagenz vermischt, und im Falle einer positiven Reaktion erscheint sofort eine purpurne Farbe, deren Intensität von der ausgeschiedenen Menge an Abbauprodukten abhängt.

Forrest-Reaktion Nr.2 ist geeignet für den Nachweis von Promazin und Mepazin.

Das Reagenz hat dieselbe Zusammensetzung wie das Reagenz Nr.1. Die Reaktion wird in derselben Weise durchgeführt. Enthält der Harn Abbauprodukte von Promazin oder Mepazin, so erscheint je nach deren Menge ein Farbton von rosa über ziegelrot, carminrot bis schwarzblau.

Forrest-Reaktion Nr.3 ist geeignet für den Nachweis von Thioridazin.

Das Reagenz besteht aus:

2 Teilen 5% Eisenchloridlösung und

98 Teilen 30% Schwefelsäure.

1 cm^3 Urin wird mit 1 cm^3 Reagenz vermischt und im Falle einer positiven Reaktion, wenn der Urin also Abbauprodukte von Thioridazin enthält, erscheint je nach deren Menge ein Farbton von orange bis blau.

Forrest-Reaktion Nr.4 ist geeignet für den Nachweis von Imipramin (Tofranil).

Das Reagenz besteht aus:

25 Teilen 0,2% Kaliumdichromatlösung

25 Teilen 30% Schwefelsäure

25 Teilen 20% Perchlorsäure

25 Teilen 50% Salpetersäure.

0,5 cm^3 Urin werden mit 1 cm^3 Reagenz vermischt und im Falle einer positiven Reaktion, wenn der Urin also Abbauprodukte von Imipramin enthält, erscheint je nach deren Menge ein grüner Farbton.

Forrest-Reaktion Nr.5 ist der allgemeine Nachweis für Phenothiazine.

Das Reagenz besteht aus:

5 Teilen 5% Eisencloridlösung

45 Teilen 20% Perclorsäure

50 Teilen 50% Salpetersäure.

1 cm^3 Urin wird mit 1cm^3 Reagenz vermischt und im Falle einer positiven Reaktion, wenn der Urin also Abbauprodukte irgendwelcher Phenothiazinderivate enthält, erscheint je nach deren Menge, innerhalb 10 Sekunden ein Farbton von rosa über violett bis schwarzblau.

Ein später erscheinender Farbton ist nicht zu beachten.

Die Reaktionen sind weitgehend spezifisch. Falsche negative Ergebnisse wurden bei weit über 1000 Untersuchungen nicht gefunden (Ausnahme: starke Flüssigkeitsaufnahme).

Falsche positive Ergebnisse können endogenen oder exogenen Ursprungs sein. Exogene Faktoren hierfür können Ausscheidungsprodukte anderer Medikamente wie PAS, natürliche oder synthetische Östrogene oder Aspirin sein. Als endogene Faktoren kommen hauptsächlich Phenylketonurie oder Leberfunktionsstörungen in betracht.

Der große Vorteil dieser Nachweismethoden von Forrest und Mitarbeitern liegt neben der Einfachheit des Verfahrens in der Schnelligkeit, mit der man das Ergebnis erhält, sowie in der gringen Harnmenge, die benötigt wird.

Forrest und Mitarbeiter haben die Farbtöne, die bei den fünf verschiedenen Reaktionen auftreten können, in einer Farbtafel zusammengestellt.

2) Chromatographische Verfahren

a) Papierchromatographie

Die Papierchromatographie, die schon seit langer Zeit zur Trennung und zum Nachweis der verschiedensten Substanzen angewandt wird, eignet sich auch zum Nachweis einer Phenothiazin-Aufnahme. Mehrere Verfasser berichteten von geeigneten Verfahren.

Jatzkewitz (1953) veröffentlichte folgende Methode zur Bestimmung von basischen Suchtmitteln im Harn mittels der Papierchromatographie:
10 cm^3 Harn werden mit Sodalösung auf einen ph-Wert von 9-10 gebracht, mit 10 cm^3 Essigsäure-isoamylester (Amylacetat) ausgeschüttelt und die durch Zentrifugieren geklärte organische Phase mit einigen Tropfen 15% Ameisensäure durchgeschüttelt, sodaß sich nach abermaligem Zentrifugieren die basischen Substanzen als Ameisensäure-Salze in 80-90 cm^3 wässriger Phase befinden, die auf Filterpapier Schleicher und Schüll derart aufgetragen werden, daß 7/8 in einem, 1/8 in einem zweiten Startfleck vereinigt sind. Diese Aufteilung ist wegen der Mengenschwankungen an Suchtmitteln notwendig, denn der Harn Süchtiger kann z.B. bis zu Mengen von 800 γ Polamidon/10 cm^3 enthalten. Als aufsteigendes Lösungsmittel wurde die organische Phase des Systems Butanol-Ameisensäure-Wasser (12:1:7) verwendet. Zur Sichtbarmachung gelangten das "Dragendorff-Reagenz"

(Kaliumwismutjodidlösung) zur Anwendung. Für basische Substanzen ergaben sich auf schwach gelborange getöntem Untergrund ziegel- bis violettrote Flecken, die beständig sind (als Ausnahme Pervitin).
Bei dieser papierchromatographischen Methode des Suchtmittelnachweises erscheinen die Phenothiazine mit dem Sprühreagenz Kaliumwismutjodid als ziegelrote Flecken im Bereich des Polamidon und Dolantin.

Schwerbrock (1956) benutzte zur Unterscheidung der Phenothiazine von den Alkaloiden ein Bedämpfen des nach Jatzkewitz entwickelten Papierchromatogramms mit rauchender Salpetersäure. Es entsteht an der Stelle des Phenothiazins ein rosa Fleck, der nach dem Trocknen gelb wird, aber später verschwindet.

Wie Burger und Berninger (1958/59) berichteten, identifizierten Cristol, Crastes de Paulet und Bourdiol die bei der Papierchromatographie der Alkaloide erhaltenen Flecke von Phenothiazinen mit Hilfe der gelbgrünlichen Fluoreszenz unter der UV-Lampe und durch photochemische Oxydation bei Tageslicht.

Nadeau und Sobolewski (1959) wendeten eine Papierchromatographie mit umgekehrten Phasen an. Sie extrahierten die Phenothiazine aus sodaalkalischem Harn mit Isobutanol. Bei der aufsteigenden Papierchromatographie gelangte als mobile Phase eine 5% Ammoniumsulfatlösung, die mit Isobutanol

gesättigt war, zur Anwendung.

Als Sprühreagenz diente Jodplatinat.

Es ergaben sich folgende Rf-Werte:

Promethazin (Atosil)	0,71
Levomepromazin	0,67
Promazin	0,62
Chlorpromazin (Megaphen)	0,48

Zur quantitativen Bestimmung wird ein nicht besprühter Fleck ausgeschnitten, mit Mc Ilvaine-Puffer von ph 4 eluiert und nach Versetzen mit Gummigutt-Lösung die darauf mit Jodplatinat erhaltene Färbung bei 610_{nm} gegen einen Blindwert gemessen.

Burger und Berninger (1958/59) geben ebenfalls ein papierchromatographisches Verfahren zum Nachweis von Phenothiazinen an. Sie gingen bei der Entwicklung ihrer Methode von der Tatsache aus, daß die Phenothiazine als basische Substanzen bei einem ph-Wert von 9 praktisch vollständig als freie Basen vorliegen und hier ihr Verteilungsgewicht ganz auf Seite der organischen Phase liegt. So können die Phenothiazine im stark alkalischen Bereich fast vollständig ins organische Lösungsmittel überführt werden. So werden bei diesem Verfahren die Phenothiazine (zusammen mit ihren in organischen Lösungsmitteln löslichen Abbauprodukten ?) ziemlich genau erfaßt, und dieses Verfahren eignet sich für die anschließende Papierchromatographie und

Fluoreszenzfarben Im UV-Licht (Reinsubstanzen)

	ohne Zusatz	mit Ammoniak	NaOH aufgetropft
Megaphen	stark hellgelb	kräftig blau	hellblau grün
Atosil	schmutzig gelb	orange gelb	hellblau
Padisal	dunkelblau	schmutzig gelb	dunkelblau

Als spezifisches Sprühreagenz für Phenothiazine diente Palladiumchlorid, das Phenothiazine sicher nachweist, bei basischen Suchtmitteln aber keine Reaktion zeigt. Es ergaben sich dunkelviolette Flecke auf braungelbem Grund bei hoher Konzentration, bei geringen Konzentrationen bräunlich violette Flecke, die sich als beständig erwiesen. Die Unterschiede in der Abfärbung waren so gering, daß sie zur Unterscheidung der einzelnen Derivate nicht herangezogen werden konnten.

Für die einzelnen Derivate ergaben sich folgende Rf-Werte: (Reinsubstanzen)

ph	3,5	6,0	7,5
Megaphen	0,92	0,73	0,93
Atosil	0,9	0,73	0,96
Padisal	0,63	0,65	0,60
Dibutil	0,82	0,82	0,94
Pacatal	0,90	0,74	0,96
Latibon	0,91	0,79	0,96

Nach diesem Verfahren können Megaphen und Atosil nicht unterschieden werden.

Spektrophotometrie gleich gut:
20 - 50 ml Urin werden mit konz. Natriumkarbonatlösung alkalisch gemacht (ph mindestens 9). Sodann wird der Urin zweimal mit dem gleichen Volumen an Solvens (Äthyläther, Benzol, Hexan 1:1:1) extrahiert. Die organischen Phasen werden zusammengegeben und zweimal mit dem gleichen Volumen an 0,5% Salzsäure ausgeschüttelt. Die salzsauren Auszüge werden mit Natriumkarbonatlösung wieder alkalisch gemacht und nochmals mit dem gleichen Volumen an Solvens re-extrahiert. Nach Abtrennung wird das Lösungsmittel filtriert, mit einer Mischung von 2 Tropfen konz. Salzsäure in 10 ml absolutem Methanol versetzt und auf dem Wasserbad eingedampft.
Der Extraktrückstand wird in wenig Alkohol aufgenommen und auf ein Papierchromatogramm aufgetragen. Burger und Bernin-ger verwendeten gepufferte Papiere (ph: 3,5; 6,0; 7,5) und als Fließmittel Butanol, das mit der jeweiligen Pufferlösung gesättigt war. Bei ph 3,5 wurde das Papier mit Mc Ilvaine-Puffer getränkt und an der Luft getrocknet, bei ph 6 und ph 7,5 kam Phosphatpuffer nach Sörensen zur Anwendung.
Zuerst wurden die Reinsubstanzen in Form der Hydrochloride (20 und 30 Gamma) aufgetragen und bei einer Temperatur von 20 ± 1,5 Grad aufsteigend chromatographiert. Vor der Entwicklung wurden die Chromatogramme im UV-Licht auf Fluoreszenz untersucht.

Aus Harnproben nach Gaben von Atosil oder Megaphen in Mengen zwischen 75 und 500 mg erhielten die Verfasser nach Extraktion nach dem angeführten Verfahren mit Palladiumchlorid anfärbbare Substanzen mit folgenden Rf-Werten:

ph	
3,5	0,85 - 0,9
6,0	0,72 - 0,75
7,5	0,90 - 0,92

Diese Rf-Werte entsprachen denen der Reinsubstanzen Megaphen und Atosil, sodaß Burger und Berninger zu der Annahme kamen, daß zumindest ein gewisser Teil der eingenommenen Phenothiazine unabgebaut ausgeschieden wird. Ob die Verfasser Abbauprodukte mit anderen Rf-Werten gefunden haben, erwähnten sie nicht in ihrer Veröffentlichung.

Gg. Schmidt (1959) verzichtet in seinem papierchromatographischen Verfahren, das er als Vorprobe bei der toxikologischen Harnanalyse empfiehlt, bewußt auf die Einführung neuer Gemische und beschränkt sich auf zwei Standardgemische, das von Algeri und Walker 1952 für Babiturate angegebene und das von Jatzkewitz 1953 für sogenannte basische Suchtmittel.

Hierzu seien die methodischen Daten kurz angegeben:

Aufsteigende eindimensionale Papierchromatographie mit einem alkalischen und einem sauren Gemisch.

Das alkalische Gemisch nach Algeri und Walker 1952 besteht aus:

n-Butanol gesättigt mit 5n Ammoniak

Das saure Gemisch von Jatzkewitz (1953) besteht aus:
n-Butanol : 15% Ameisensäure : Wasser (12:1:7).

Extraktionsverfahren:

Zuerst werden 10 ml Harn nach Jatzkewitz sodaalkalisch mit Amylacetat und anschließend weinsauer mit Essigester extrahiert. Dem Amylacetat-extrakt werden mit einer geringen Menge (0,2 ml) Ameisensäure die basischen Substanzen und dem Essigester-extrakt mit 0,2 ml Ammoniaklösung die sauren Substanzen nach Schütteln und Zentrifugieren entzogen. Beide wässrigen Endlösungen werden mit je 1/10 und 4/10 der Menge auf je zwei Flecke auf zwei Papiere (Schleicher und Schüll-Papier Nr. 2043b) aufgetragen, wonach ein Papier in das Jatzkewitz-Gemisch das andere in das Algeri-Walker-Gemisch eingetaucht wird.

Nach dieser Extraktionstechnik können folgende Substanzgruppen erfaßt werden:

Soweit sie im Harn zur Ausscheidung gelangen, erscheinen im Jatzkewitz-Extrakt (alkalisch):

Alkaloide, insbesondere Opium-, China-, Strychnos- und Mutterkornalkaloide, sowie Nikotin, Analgetika der Polamidon- und Morphinanreihe, Lokalanästhetika, Phenothiazine, Acridinderivate, Weckamine und Stimulantien.

In dem bei saurer Reaktion gewonnenen Extrakt erscheinen:

Schlaf- und Narkosemittel der Barbitursäure- und Thiobarbitursäurereihe, außerdem Persedon, Noludar, Doriden,

Valamin, Antipyretika, Sulfonamide und Bakteriostatika. Außerdem sind eine große Anzahl von Harnausscheidungsprodukten nachweisbar und schließlich körpereigene Substanzen, deren Unterscheidung von Fremdsubstanzen notwendig ist.

Von den bekannten Reagentien zur Sichtbarmachung papierchromatographisch getrennter Substanzen haben sich besonders bewährt:

Ultraviolettes Licht verschiedener Wellenlänge für fluoreszierende und absorbierende Substanzen, Wismutsubnitrat und Kaliumjodid in Eisessig (Munier-Macheboeufs Reagenz) für Alkaloide und andere Stickstoff-Basen, diazotierte Sulfanilsäure in alkalischer Lösung oder Eisen III-chlorid für Substanzen mit phenolischer Hydroxylgruppe.

Für Phenothiazine gibt Schmidt folgende Werte an:

bstanz	R_F-Wert I	R_F-Wert II	UV Licht	$Hg_2(NO_3)_2$	Munier	Diato	$FeCl_3$	Ehrlich	$KMnO_4$
osil	0,90	0,75	s g		z				g
bekannte bstanz aus Atosil)	0,90	0,50			z				
butil	0,98	0,77	s a	s br	z		s v	k v	g
tibon	0,96	0,69	a bl Fl		z		k	k	g
gaphen	0,90	0,75	a	k br	z	g	grau bl	v	bl/g
bekante bstanz us Meg.)	0,20	0,90	a			o			
itere un- kannte Subst. s Meg.	0,80	0,5-0,8	a		bro				
centan	0,81	0,60	ablFl	k	z	0,81:0 0,60:br	v	sv	rv

Auf dem gleichen Papier können nacheinander folgende Kombinationen von Reagentien angewandt werden, wodurch die Beweiskraft erhöht wird:

A) 1. Ultraviolettes Licht
   2. Munier-Reagenz
   3. Diazotierte Sulfanilsäure oder Ehrlichs Reagenz

B) 1. Ultraviolettes Licht
   2. Quecksilber I-nitrat
   3. Ehrlichs Reagenz

C) 1. Ultraviolettes Licht
   2. Quecksilber I-nitrat
   3. Kaliumpermanganat

Auch das Herauslösen von Flecken und die nachfolgende spektrophotometrische Messung der Lichtabsorption oder die direkte Vakuumsublimation der Papierstücke haben sich bewährt.

b) Dünnschichtchromatographie

In den letzten Jahren wurde eine neue Methode zur Trennung und Bestimmung verschiedener Substanzen entwickelt, die gegenüber der Papierchromatographie einige Vorteile bietet: die Dünnschichtchromatographie, die auf E. Stahl zurückgeht. Gegenüber der bewährten und schon lange gebräulichen Papierchromatographie zeichnen sich die Dünnschichtplatten durch Folgendes aus:

1) geringer Zeitaufwand:
Während nämlich die Papierchromatographie meistens 12 und mehr Stunden beansprucht bis das Ergebnis vorliegt, liegt die Versuchsdauer bei der Dünnschichtchromatographie, je nach Laufmittel, meist innerhalb 2 Stunden.
2) als Sprühmittel können auch aggresive Reagentien, wie z. B. konz. Säuren, angewandt werden.
3) Eluierung der Flecken mit verschiedenen Lösungsmitteln zwecks nachheriger Kolorimetrie oder Spektrophotometrie ist leicht durchführbar.
4) es lassen sich sehr gut kleine Chromatographiegefäße verwenden, die schneller mit den Lösungsmitteln gesättigt sind.
5) bei der kurzen Laufzeit spielen Temperaturänderungen beim Entwickeln des Chromatogramms eine unbedeutende Rolle.
6) die gleiche Platte kann mit verschiedenen Reagentien besprüht und immer wieder neu gebraucht werden.
7) selbst kleinste Mengen können noch dargestellt werden.
Das Laufmittel soll nach Mözlichkeit innerhalb kurzer Zeit günstige Rf-Werte und runde Flecke liefern.
Hauptsächlich verwendet man Kieselgel- oder Aluminiumoxydplatten.

Randerath (1962) berichtet über ein dünnschichtchromatographisches Verfahren zum Nachweis von Medikamenten, das sich zur toxikologischen Analyse gut eignen soll.

Das zu untersuchende Objekt, Mageninhalt, Blut, Liquor, Urin, wird aus weinsaurer, dann alkalischer Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Die nach dem Verdampfen des Äthers erhaltenen Extrakte werden in 1ml Methanol oder Methylenchlorid gelöst und aliquote Teile (1/1ooo, 1/1oo, 1/2o) an den Startpunkten des Chromatogramms aufgetragen. Besteht der Verdacht auf Morphinderivate, so wird nach der sauren Ätherausschüttelung ammoniakalisch gemacht und etwa 30 Minuten lang mit Chloroform am Rückfluß ausgezogen. Die Chromatographie wird an Kieselgel- G- Schichten ausgeführt. Barbiturate und barbitursäureähnliche Verbindungen lassen sich mit Chloroform / Aceton (9:1, Laufzeit für 10 cm 45 Minuten) trennen, während für Alkaloide, Phenothiazine und ähnlich wirkende Substanzen Methanol / Aceton / Triäthanolamin geeignet ist (1:1:0,03, Laufzeit 30 Minuten) Nachweis und Sichtbarmachung geschah auf folgende Weise:

1) Betrachten im UV-Licht
2) Besprühen mit nach Munier modifiziertem Draggendorf-Reagenz
3) für Phenothiazine und ähnliche Substanzen das von Burger und Berninger (1958/59) empfohlene schwach salzsaures 0,5% Palladiumchlorid als Sprühmittel.

Randerath bekam mit seinem Verfahren u. a. folgende Ergebnisse:

	Rf-Wert	UV-Licht	Flecke 1.Draggendorf-R. 2.$PdCl_2$
Acepromin	0,33-0,35	orange	rot rotbraun
Promazin	0,37-0,39	blau	orange violett
Tofranil	0,44-0,46	hellblau	orange weiß
Thioridazin	0,47-0,49	hellblau	rot rotbraun
Chlorpromazin	0,49-0,50	hellblau	orange rotbraun
Diethazin	0,53-0,55	blau	orange violett
Promethazin	0,55-0,57	blau	orange violett
Taractan	0,55-0,57	blau	orange gelblich
Isothiazin	0,57-0,59	bräunlich	orange violett
Librium	0,84-0,86		orange gelb

Eberhardt, Lerbs und Freund (1962) gaben eine kurze Mitteilung über die Anwendung der Dünnschichtchromatographie beim Nachweis von psychotropen Phenothiazinderivaten im Harn heraus. Sie entwickelten unter Verwendung der Dünnschichtchromatographie nach Stahl ein Verfahren zum Nachweis folgender Phenothiazine und ihrer Ausscheidungsprodukte: Promazin (Verophen), Promethazin (Atosil), Chlorpromazin (Megaphen), Levomepromazin (Neurocil), Triflupromazin

(Psyquil), Mepazin (Pacatal), Thioridazin (Melaril), Perazin (Taxilan), Chlorperphenazin (Decentan), Butyrylperazin (Randolectil).

Zur Erfassung der Phenothiazinausscheidungsprodukte beim Menschen wurden Harnproben, die nach der peroralen Einnahme nach drei Stunden, nach weiteren drei Stunden, nach weiteren sechs Stunden und nach weiteren zwölf Stunden anfielen, aufgearbeitet.

Die Extraktion erfolgte nach dem Verfahren von Kotionis.

Die Reinsubstanzen und Ausscheidungsprodukte wurden auf Kieselgel (G Merck / Darmstadt) - Platten mit dem Fließmittel Pyridin-Petroläther (Kp 50 - 70°) - Methanol (1:4,5:0,1) chromatographiert.

Zur Sichtbarmachung der Chromatogramme dienten u. a. folgende Reagentien:

konz. Schwefelsäure-Äthanol (1:9), 10 % Phosphormolybdänsäure, 10 % Eisen III-chlorid und Perchlorsäure.

Farbumschläge der Flecke ergaben sich nach der Anwendung von Bromdampf, konz. Salpetersäure, 10 % Chloramin oder Jod- Jodkalilösung auf eosinpräparierten Kieselgelplatten fluoreszierte Butyrylperazin Orange - gelb im UV- Licht (Wellenlängen 254nm und 360nm), während die übrigen untersuchten Phenothiazine als violette Flecke erschienen.

Die Zahl der mit Schwefelsäure-Äthanol-Reagenz angefärbten Ausscheidungsprodukte war bei der ersten Urinprobe am größten und nahm bei den folgenden Proben ständig ab.

Die Verfasser machten in ihrem Bericht keine Angaben, ob die Flecken auf dem Chromatogramm von unveränderten Phenothiazinen oder von Abbauprodukten stammten.

3) Spektrophotometrische Bestimmung

a) Spektrophotometrische Bestimmung über gefärbte Schwermetallkomplexe

Über die Anwendung der Spektrophotometrie bei Phenothiazinen wurde bereits von verschiedenen Autoren berichtet. Die Tatsache, dass Mineralsäuren die Oxydation aller Abkömmlinge des Phenothiazins begünstigen, wird zur Grundlage des kolorimetrischen quantitativen Nachweises gemacht. Kinberger (1959) zeigte eine Möglichkeit zur Identifizierung von Phenothiazinen im Urin. Er arbeitete mit zwei Lösungen.

Lösung I:

Ein Teil konz. Schwefelsäure wird vorsichtig mit drei Teilen Aqua dest. verdünnt. Zu 100 ml dieser Verdünnung werden 0,25 ml einer 50% Ferrichloridlösung gegeben.

Lösung II:

3 g Ascorbinsäure werden in 30 ml Aqua dest. gelöst. Nun werden 2,0 ml Urin mit 3,0 ml der Lösung I zusammengebracht. Als Vergleichsprobe vermischt man 2,0 ml Urin mit 2,0 ml der Lösung II und 3,0 ml der Lösung I .

Der Zusatz von Lösung I zu beiden Proben soll gleichzeitig geschehen. Danach wird geschüttelt und die Lösung in 10 mm - Cuvetten überführt. Mit dem Spektrophotometer

wird dann die Absorptionskurve bestimmt (400 - 650 nm in 10 mm Abstand).

b) Spektrophotometrische Bestimmung über gefärbte Komplexe mit Bromthymolblau.

Kotionis (1961) gibt eine empfindliche Methode zur kolorimetrischen Bestimmung der 10 - Dialkylaminoalkylphenothiazine an, die sich auf der Bildung eines in Chloroform löslichen Komplexes mit Bromthymolblau im Molverhältnis 1:1 gründet. Untersuchungen über die Verteilung zwischen wässriger Pufferlösungen und Chloroform ergaben, daß die untersuchten Phenothiazine mit Chlorid-Phthalat-Jonen in Chloroform lösliche Komplexe bilden, die in saurer Lösung beständig sind.

Bestimmung der Phenothiazine im Urin:

In einem Scheidetrichter werden 40 ml Urin gegeben. Nachdem 5ml einer 1 n Salzsäure zugegeben wurde, werden die Phenothiazine zweimal mit 40 ml Chloroform extrahiert. Die beiden Chloroformphasen werden zusammengegeben und zweimal mit 10 ml 0,2 n Natronlauge extrahiert. Anschließend wird das Chloroform verdampft bis zu einem Volumen von ungefähr 7 ml. Nach dem Abkühlen werden in einem Scheidetrichter 3 ml Chloroform dazugegeben und anschließend noch 0,4 ml einer Lösung, die aus Bromthymolblau, Alkohol, 0,2 n Natronlauge und Wasser besteht. Nachdem man noch 10 ml Phosphatpuffer zugefügt hat, schüttelt man 1 Minute lang bis es

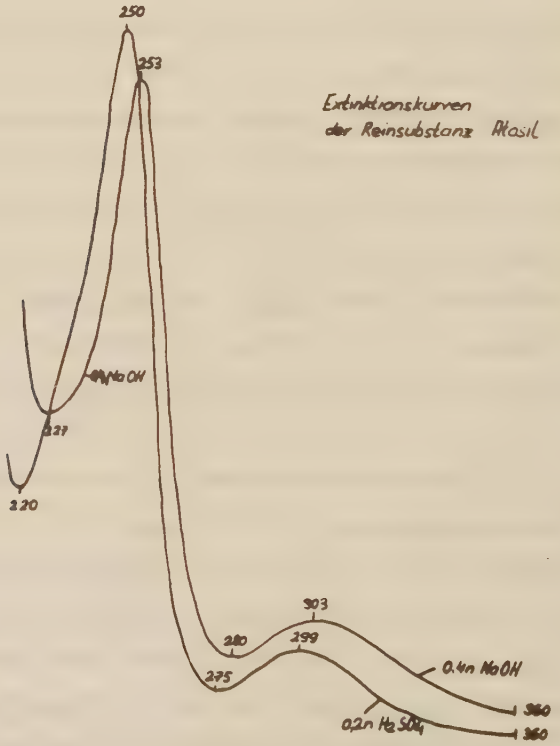
möglich ist, 2 Phasen zu unterscheiden. Das Chloroform wird nun in einen anderen Scheidetrichter gegeben und mit 2 ml Chloroform vermischt. Anschließend extrahiert man mit 10 ml einer 0,01 n Natronlauge und verdünnt mit der selben Lauge auf 100 ml.
Die Absorption der sich ergebenden Lösung wird bei 615 nm in einem Spektrophotometer bestimmt. Die Menge ergibt sich dann durch Vergleich mit einer Standardlösung.

c) UV - Spektrophotometrie nach Burger und Berninger

Wegen ihres charakteristischen Absorptionsspektrums im UV - Bereich und ihrer großen Eigenabsorption eignet sich die UV - Spektrophotometrie gut zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung unabgebauter Phenothiazine und einiger Stoffwechselprodukte.
Die Absorption ist nach Burger und Berninger (1958/59) dem aromatischen Phenothiazinkern zuzuordnen, wogegen die aliphatische Seitenkette nur geringen modifizierenden Einfluß hat.
Das Extraktionsverfahren der beiden Verfasser wurde schon bei der Papierchromatographie beschrieben.
Der Extraktrückstand wird für die Spektrophotometrie in 5 ml 0,2 n Schwefelsäure gelöst und die Absorptionskurve im Spektophotometer zuerst im sauren, anschließend im alkalischen Milieu bestimmt. Sie hat für Promethazin (Atosil) und Chlorpromazin (Megaphen) einen sehr ähnlichen Verlauf.

Das Maximum der Absorption liegt bei 250 nm, ein weiteres Maximum bei ungefähr 300 nm und ein Minimum bei 280 nm.

Beim Übergang ins alkalische Milieu ergibt sich bei vielen Phenothiazinen (eine Ausnahme macht z.B. Pacatal) eine Verschiebung der Kurve, die ihren charakteristischen Verlauf aber beibehält, zum langwelligeren Bereich.

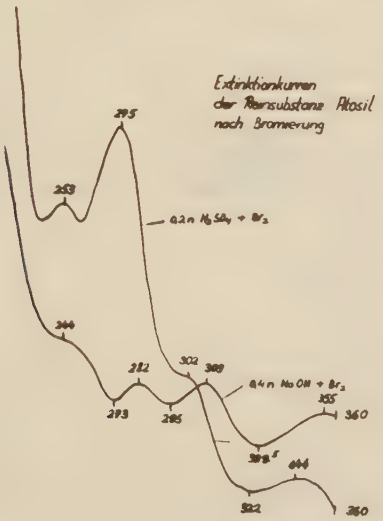


Für Reinsubstanzen bekamen Burger und Berninger folgende Werte :

Atosil	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	300, 251	276, 221
0,4 n NaOH	310, 255	279, 235

Megaphen		
0,2 n H_2SO_4	305, 255	280, 233
0,4 n NaOH	308, 260	292, 237

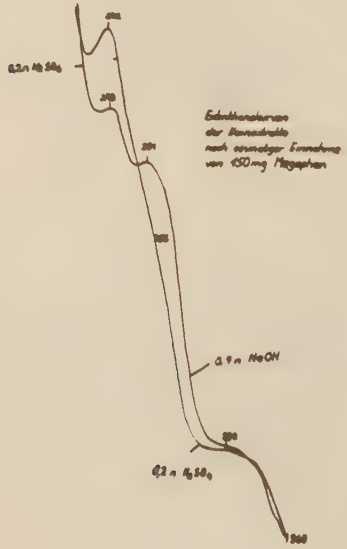
Burger und Berninger zeigten auch, daß sich diese Kurven nach Zusatz von 10% Bromwasser (wonach die Lösung zuerst 10 min. bei Zimmertemperatur stehen bleibt) grundlegend verändern und jetzt 4 Maxima und Minima zeigen.

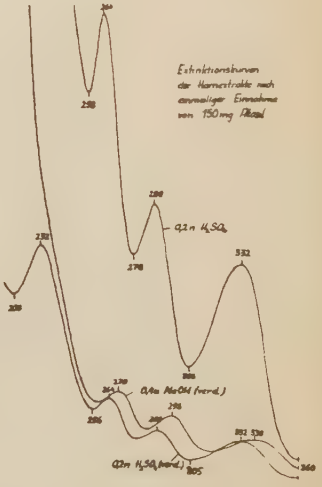


Atosil	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4 +Br_2	350, 305 279, 234	325, 297 256
0,4 n NaOH + Br_2	352, 301 272	332, 286 256
Megaphen		
0,2 n H_2SO_4 + Br_2	360, 314 286, 256	323, 300 271, 250
0,4 n NaOH + Br_2	349, 304 277,238	376, 320 263, 229

(nach Burger und Berning

Bei der Aufarbeitung von Harnen nach Gaben zwischen 75 und 500 mg Megaphen oder Atosil, wobei Morgenharn zur Anwendung kam, erhielten die beiden Autoren nicht die Absorptionskurven der Reinsubstanzen, sondern Kurven mit 3 Maxima und Minima, di sich nicht untereinander unterschieden.



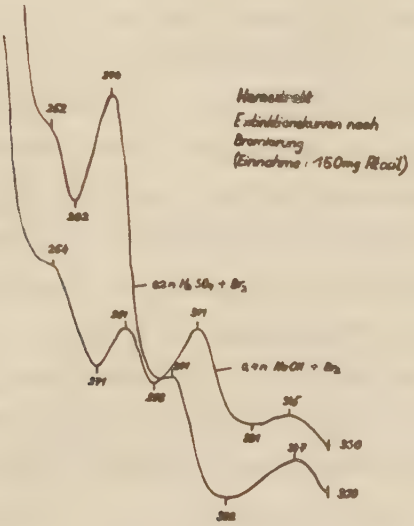


Burger und Berninger bekamen folgende Werte :

	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	270,295,335	255,285,310
0,4 n NaOH	273,300,339	259,270,315

Nach Bromierung lieferten die Harnextrakte Kurven, die mit denen der Reinsubstanzen nach Bromierung identisch waren.

0,2 n H_2SO_4	277,304,349	289,320,376



Die Spektrophotometrie nach dem Verfahren von Burger und Berninger eignet sich also zur qualitativen wie auch zur quantitativen Bestimmung der Phenothiazine im Harn, wobei aber die einzelnen Derivate untereinander mit dieser Methode allein nicht zu unterscheiden sind. Eine Abgrenzung gegenüber anderen Substanzen, wie z.B. Opiaten, ist jedoch recht gut möglich.

4) Suchtmittelnachweis für basische Alkaloide nach Cronheim-Ware in der Modifikation nach Weinig-Schmidt.

Dieser Suchtmittelnachweis für basische Alkaloide fußt auf der Beobachtung, daß viele organische Basen mit bestimmten Säuren salzartige Additionsprodukte bilden, die in Benzol und ähnlichen organischen Solventien löslich sind. Wenn nun die organische Säure stark gefärbt ist, kann sie kolorimetrisch gemessen werden und somit ist eine Bestimmung der Base möglich. Als saure Komponente werden viele Indikator-Farblösungen verwendet. So benutzten Lehman und Aitken Bromthymolblau für die Bestimmung vom Demerol, für die Bestimmung von Chinchonin wurde Methylorange verwandt. Cronheim und Ware wählten für den Nachweis von Amidon Bromkresolpurpur aus, weil es die größte Lichtextinktion bei der Absorption zeigte. Weiterhin ist von Vorteil, daß die Reaktion mit Amidon bei einem sauren ph-Wert vor sich geht, der die erforderliche Extraktion ohne ausgeprägte Emulgierungen ermöglicht.
In folgender Tabelle sind einige saure Farblösungen aufgeführt, die mit Amidon reagieren.

saure Farblösung	größte Lichtabsorption	Additionsprodukt mit Amidon		
		rel.Wert	gebildet bei ph	löslich in Benzol
Bromkresolpurpur	580	101	5,4	+
Bromthymolblau	610	75	7,5	+
Bromkresolgrün	620	65	5,2	+
Bromphenolblau	580	53	3,5	+
Bromchlorphenolblau	585	18	4,0	+
Methylorange	515		5,0	+

Wir wendeten das Verfahren von Cronheim-Ware in einer Modifikation nach Weinig-Schmidt auf Phenothiazine an.

Die Farblösung setzt sich wie folgt zusammen:
0,2 g Bromkresolpurpur wird in 15 cm^3 Aqua dest. aufgelöst, sodann werden 3,2 cm^3 n/10 Natronlauge zugefügt und auf 250 cm^3 aufgefüllt.

Puffer:
9,078 g KH_2PO_4 und 11,876 g Na_2HPO_4 werden je in einem halben Liter CO_2-freien Aqua dest. gelöst. 7,75 cm^3 Kaliumphosphatlsg. und 2,25 cm^3 Natriumpnosphatlsg. werden gemischt (ph 6).

Technik:
2,5 cm^3 Farblösung, 10,0 cm^3 Puffer, 10 cm^3 Urin (vorgepuffert auf ph 6,0) und 25 cm^3 Benzol werden in einem Scheidetrich-

ter eine Minute lang geschüttelt. Hierbei muß die Farbe der wäßrigen Phase tief burgunderrot mit einem Stich ins Violette sein. Intensiv violette Lösungen sind zu alkalisch, gelbe bis orange Lösungen sind zu sauer.
15 cm^3 Benzol werden nach Abzentrifugieren der Wassertröpfchen und eventueller Nachfiltration mit 2 cm^3 n/20 Natronlauge im Reagenzglas ausgeschüttelt und können darin verbleiben. Der Indikator trennt sich jeweils vom Alkaloid und geht in die wäßrig-alkalische Phase über, während das Alkaloid in der organischen Phase verbleibt.
Nach einer bestimmten Einnahmemenge von Phenothiazinen zeigt dieser Nachweis mit Harn ebenfalls eine positive Reaktion.

V) Problemstellung

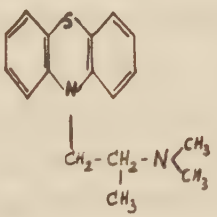
Mit unseren Versuchen wollten wir genauere Kenntnisse bekommen über die ungefähre Ausscheidungsdauer von Phenothiazinen oder ihren Abbauprodukten nach einer einmaligen Einnahme von Atosil oder Megaphen und versuchen, die Menge dieser Ausscheidungsprodukte halbquantitativ festzulegen.
Außerdem wählten wir sechs Nachweisverfahren für Phenothiazine in Urinproben aus, um die Empfindlichkeit und Genauigkeit der einzelnen Methoden bei einmaliger Dosierung von Atosil oder Megaphen in verschiedenen Mengen bei wechselndem Harnvolumen und verschiedenen Personen zu untersuchen.
Wir prüften für die verschiedenen Nachweisverfahren die je-

weilige Empfindlichkeit,das erforderliche Harnvolumen, die Einfachheit des Verfahrens, den Aufwand an Zeit und Apparatur und die Möglichkeiten zur qualitativen Bestimmung der einzelnen Phenothiazinderivate sowie einer halbquantitativen Abschätzung.

Zur Anwendung kamen 2 Phenothiazinderivate :

1) N-(2-dimethylamino-n-propyl)-phenothiazin

Promethazin-Hydrochlorid



Promethazin – Hydrochlorid

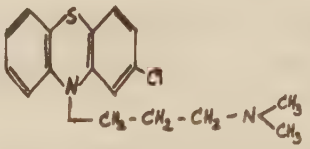
Das Promethazin ist ein im Phenothiazinring unsubstituiertes Phenothiazinderivat, das am Ringstickstoff mit einer Dimethylamino-isopropyl-Seitenkette substituiert ist.

Andere Bezeichnungen dafür sind:

Atosil, Allergan, Diprozin, Fargan, Fenergan, Lilly 01516, Phargan, Phenergan, P.M. 284, Proazamin, Prothazin, 3277 R.P, Thiergan, Vallergin.

Es ist in Form von Dragees,Sirup, Tropfen, Suppositorien, Ampullen und Salbe im Handel. Die mittlere Dosierung schwankt zwischen 50 und 250 mg (Rote Liste 1963)

2) 10-(γ-dimethylamino-propyl)-2-chlorphenothiazin
Chlorpromazin



Chlorpromazin (Megaphen)

Andere Bezeichnungen dafür sind:
Megaphen, 2601-A, Aminazin, Ampliactil, Amplictil, Chlorderazin, Chloropromazin, Chloropromazina, Fenactil, Hibanil, Hibernal, HL 5746, Largactil, Largaktyl, Promactil, Propaphenin,4560 R.P., Sanopron, SKF 2601-A, Thorazine, Wintermin.
Es ist in Form von Dragees, Tabletten, Suppositorien, Tropfen und Ampullen im Handel. Die mittlere Dosierung schwankt zwischen 75 und 150 mg (Rote Liste 1963).

Für unsere Versuche sfanden Urinproben zur Verfügung von jungen,gesunden Personen, die eine einmalige Dosis eines dieser Phenothiazinderivate eingenommen hatten. Zur Anwendung kam Morgenurin, nachdem die Dragees am Abend vorher eingenommen worden waren.
Folgende Nachweisverfahren wurden verwendet :
1) Urinfarbtest nach Forrest und Mitarbeiter
2) Suchtmittelnachweis für basische Alkaloide nach Cronheim - Ware in der Modifikation nach Weinig-Schmidt.

3) Papierchromatographisches Verfahren nach Gg. Schmidt

4) UV-Spektrophotometrie nach Burger und Berninger
(Elution der Flecken aus dem Papierchromatogramm und spektrophotometrischer Nachweis nach Burger und Berninger)

5) Versuche mit Dünnschichtchromatographie

VI) Eigene Untersuchungen mit Urinproben nach einmaliger Phenothiazineinnahme.

A) Ergebnisse nach Einnahme von Promethazin - Hydrochlorid (Atosil)

1) Urinfarbtest nach Forrest

Forrest und Mitarbeiter geben keinen eigenen Test für Atosil an. Wir verwendeten deshalb die Reaktion Nr. 5 (FR_5), den allgemeinen Nachweis für alle Phenothiazine.
Von allen Personen wurden zuvor Leerharnproben untersucht, um falsche positive Reaktionen auszuschalten.
Die Dragees wurden abends eingenommen, und der erste Morgenharn wurde gesammelt.

1. Versuch:

Einnahme von 150 mg Atosil

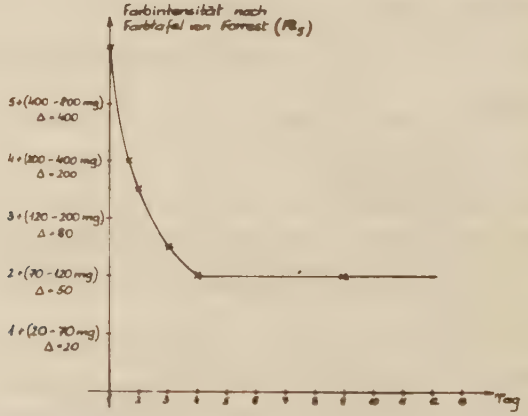
Mit FR_5 ergab sich eine stark positive Reaktion (stark violette Färbung 5+), die nach der Farbtafel eine Dosierung von über 400 mg vermuten ließ.
Die Harnmenge betrug ungefähr 200 cm^3.
Da FR_5 den empfindlichsten Nachweis für alle Phenothiazine darstellt, interessierten daneben auch die anderen Forrest-Reaktionen (FR_1; FR_2; FR_3; FR_4;).

FR_1, FR_2 und FR_3 ergaben eine schwach violette Färbung (3+). FR_4 entsprach FR_5.

Nun untersuchten wir die Ausscheidungsdauer bei dieser einmaligen Dosierung von 150 mg Promethazin - Hydrochlorid.

Mit FR_5 war zunächst ein ständiger Rückgang der Farbintensität zu bemerken, der sich bis zum 3. Tag erstreckte. Dann blieb die schwach violette Farbe (2+) bestehen, und sogar ein nach 15 Tagen nach der Promethazineinnahme gewonnener Urin ergab mit FR_5 die gleiche positive Reaktion wie sie der Harn des 4. Tages erbrachte, sodaß auf Grund der Farbtafel am 15. Tag immer noch eine Einnahme von 120 - 200 mg am Tage vorher angenommen werden müßte.

Die erhaltenen Ergebnisse sind in folgender Abbildung zusammengefaßt:



Ausscheidungsdauer und -menge nach einmaliger Einnahme von 150 mg Atosil (Reaktion nach Forrest mit Morgenharn)

Bei den nun folgenden Versuchen prüften wir die Empfindlichkeit der Nachweismethode von Forrest, indem wir den ersten Morgenurin von Personen untersuchten, die in absteigender Dosierung am Abend vorher eine einmalige Gabe von Promethazin eingenommen hatten, wobei nur der empfindlichste Test, FR_5, verwendet wurde.

2. Versuch:

Einnahme von 125 mg Promethazin

Die Harnmenge betrug ungefähr 250 cm^3.

FR_5 erbrachte hier eine positive Reaktion von 3+ (120-200 mg). Die Farbintensität stimmte also nach der Farbtafel mit der Dosierung überein.

3. Versuch:

Einnahme von 75 mg Promethazin:

Die Harnmenge betrug ungefähr 350 cm^3 (Harn I).

FR_5 erbrachtemit einer rosa Färbung (2+) die erwartete Reaktion (70 - 120 mg).

Dieser Versuch wurde bei einer anderen Person wiederholt. Die Harnmenge betrug diesmal 150 cm^3. Der Harn war also konzentrierter und zeigte mit FR_5 5+ an, was nach der Farbtafel eine Dosierung von 400 - 800 mg vermuten ließ (Harn II)

4. Versuch:

Einnahme von 50 mg Promethazin

Die Harnmenge betrug ungefähr 750 cm^3.

FR_5 erbrachte eine schwach rosa Färbung von 2+ (70-120 mg).

5. Versuch:

Einnahme von 25 mg Promethazin

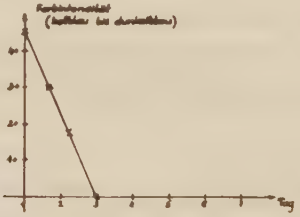
Die Harnmenge betrug ungefähr 550 cm^3.

FR_5 war ganz schwach positiv (1+).

2) Suchtmittelnachweis für basische Alkaloide nach Cronheim-Ware in der Modifikation nach Weinig-Schmidt

Nach Einnahme von 150 mg Promethazin erhielten wir mit diesem Verfahren eine positive Reaktion im Harn. Es zeigte sich eine tiefblaue Färbung, die wir, um später bei anderen Dosierungen Vergleichsmöglichkeiten zu haben, willkürlich als 4+ festsetzten.

Diese tiefblaue Färbung ging bei einmaliger Dosierung in den folgenden Tagen schnell zurück, sodaß sich schon am 3. Tage ein negatives Ergebnis zeigte.



Ausscheidungsdauer und -menge nach einmaliger Einnahme von 150 mg Atosil (Nachweis mit Verfahren von Cronheim – Ware)

Nach Einnahme von 125 mg Promethazin ergab sich eine etwas schwächer bläuliche Färbung (3+).

Nach Einnahme von 75 mg Promethazin war die Reaktion immer noch einwandfrei positiv. Harn I zeigte eine leicht bläuliche Fär-

bung (1+), während der konzentriertere Harn II etwa 3+ erbrachte.

Nach Einnahme von 50 mg und von 25 mg Promethazin fiel die Reaktion nach Cronheim-Ware negativ aus.

3) Papierchromatographisches Verfahren nach Gg. Schmidt

Dieses Verfahren wandten wir in modifizierter Form ebenfalls auf die verschiedenen Urinproben an.

Als Sprühreagentien versuchten wir die Reagentien nach Munier, Diazoreagenz, $HgNO_3$ und Palladiumchlorid.

Nach Einnahme von 150 mg Promethazin zeigte sich auf dem Chromatogramm im alkalischen Extrakt nur nach Besprühen mit Muniers Reagenz ein ziegelroter Fleck, der mit dem der Reinsubstanz Promethazin nicht auf gleicher Höhe lag.

Der RF-Wert dieses Ausscheidungsproduktes betrug in

Butanol-Ammoniak	0,85
Butanol-Ameisensäure	0,44

Die als Test mitgeführte Reinsubstanz Promethazin zeigte entsprechende RF-Werte von 0,90 und 0,44

Es kann sich hier um ein Ausscheidungs- und Abbauprodukt von Promethazin handeln. Es muß aber auch an die Möglichkeit gedacht werden, daß unverändertes Promethazin während des Extraktionsverfahrens durch Peroxyde im Äther zu Sulfoxyd verändert worden ist.

Nach Einnahme von 125 mg Promethazin erschien gleichfalls nach Anfärbung mit Muniers Reagenz im alkalischen Extrakt der

charakteristische ziegelrote Fleck mit folgenden RF-Werten:

In Butanol-Ammoniak	0,83
in Butanol-Ameisensäure	0,46

Nach Einnahme von 75 mg Promethazin lauteten die RF-Werte des sich ergebenden Flecken

in Butanol-Ammoniak	0,83
in Butanol-Ameisensäure	0,43

Nach Einnahme von 50 mg Promethazin fiel die Papierchromatographie zum erstenmal negativ aus, ebenso nach einer Dosierung von 25 mg Promethazin.

Mit Palladiumchlorid bekamen wir in keinem Fall eine Anfärbung.

4) UV-Spektrophotometrie nach Burger und Berninger

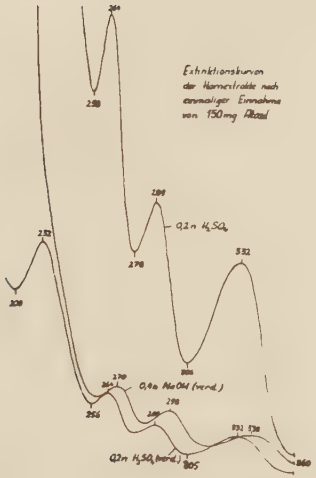
Hierzu arbeiteten wir 50 cm^3 Harn nach dem Extraktionsverfahren von Burger und Berninger auf und lösten den Extraktrückstand in 5 cm^3 0,2 n Salzsäure auf.

Zur Aufnahme der Extinktionskurven benutzten wir ein selbstregistrierendes Spektralphotometer Modell DK 2 der Firma Beckman Instruments GmbH.

Wir erhielten nach Promethazindosierung aus allen Urinproben die von den beiden Autoren beschriebene Absorptionskurve der Phenothiazine nach Extraktion aus dem Harn mit dem charakteristischen Verlauf und den 3 Max ima bzw. Minima.

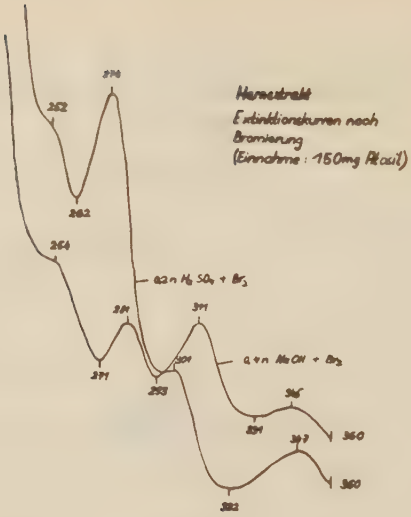
Nach Einnahme von 150 mg Promethazin ergab sich eine Absorptionskurve mit Maxima bzw. Minima bei folgender Wellenlänge:

	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	332;289;264	306;278;256
0,4 n NaOH	338;289;270	312;284;262



Nach Zusatz von Bromwasser erhielten wir ebenfalls die beschriebene Bromierungskurve mit den 4 Maxima bzw. Minima:

	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	347;301;274;252	322;290;262
0,4 n NaOH	345;311;281;254	331;293;271



Diese Bromierungskurve erwies sich mit der Bromierungskurve der Reinsubstanz Promethazin identisch.

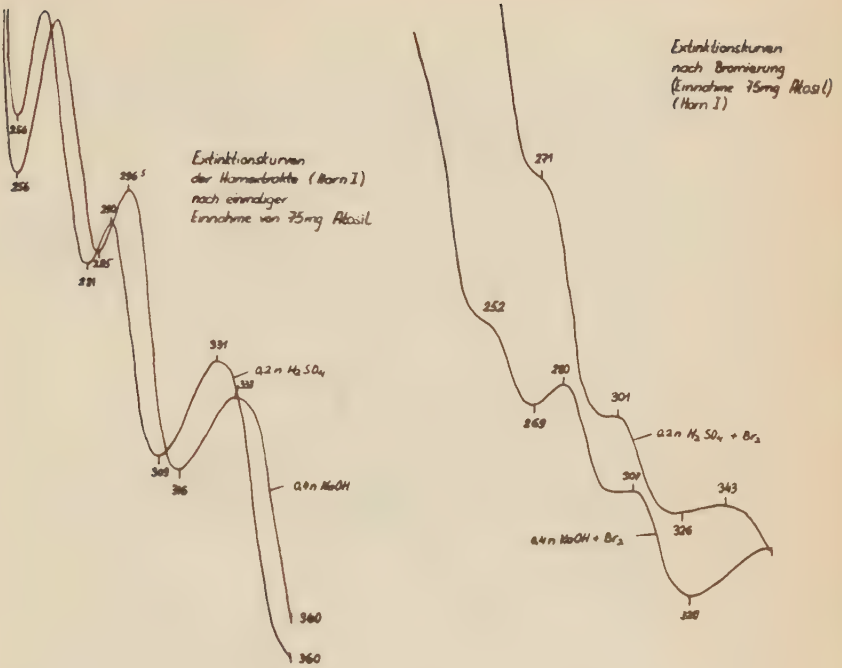
Die Reinsubstanz Promethazin ergab uns folgende Werte :

	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	304;300;275;253.	322;300;260
0,4 n NaOH	355;309;284;250	309;295;273;240

(Abbildung der Kurven s.S.47)

Nach Einnahme von 75 mg Promethazin (Versuch mit 125 mg Promethazin wurde nicht durchgeführt) ergaben sich bei Harn I die Maxima bezw. Minima bei folgender Wellenlänge:

	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	331;290;265	309;281;256
0,4 n NaOH	338;296;270	316;285;256

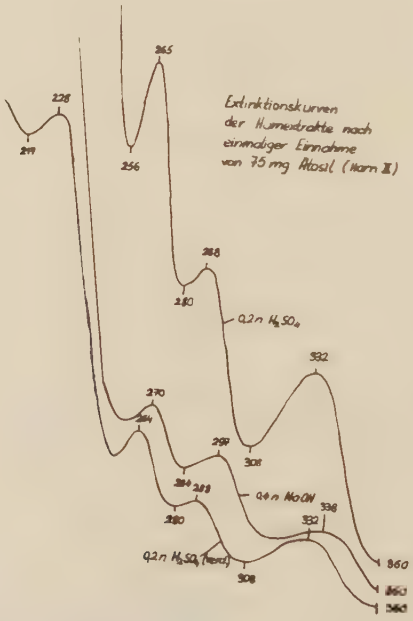


Die Bromierungskurve hatte ihre Rf-Werte bei folgender Wellenlänge :

	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	343;301;271	326;299
0,4 n NaOH	307;280;252	329;289;269

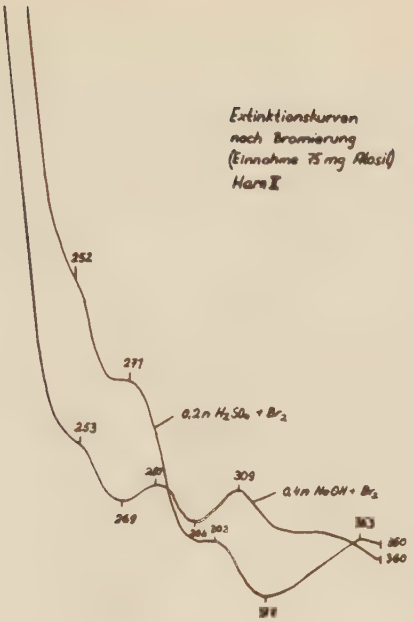
Harn II, der mit einem Volumen von 150 cm^3 konzentrierter war, erbrachte eine Kurve mit folgenden Werten:

	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	332;288;264;228,	308;280;250;217.
0,4 n NaOH	338;297;270	313;284;255



Nach Bromierung ergaben sich folgende Werte :

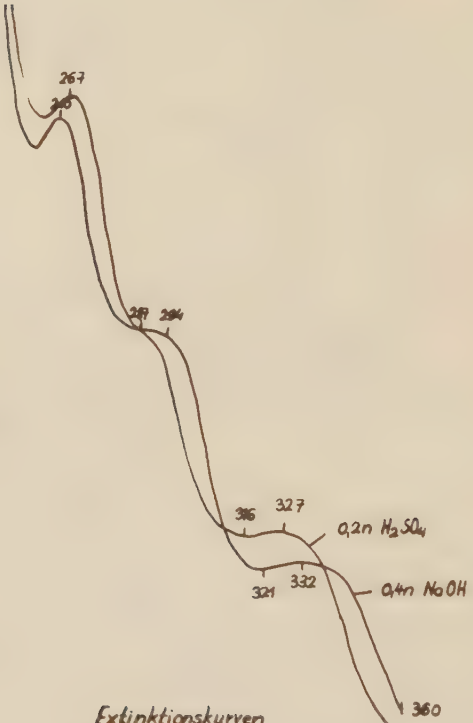
	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	353;302;271;252	319;302;265
0,4 n Naoh	309;280;253	294;269



Diese Bromierungskurve lief sich zwar noch einwandfrei identifizieren, doch waren die Maxima und Minima nicht mehr so stark ausgeprägt wie bei den Kurven nach höherer Dosierung.

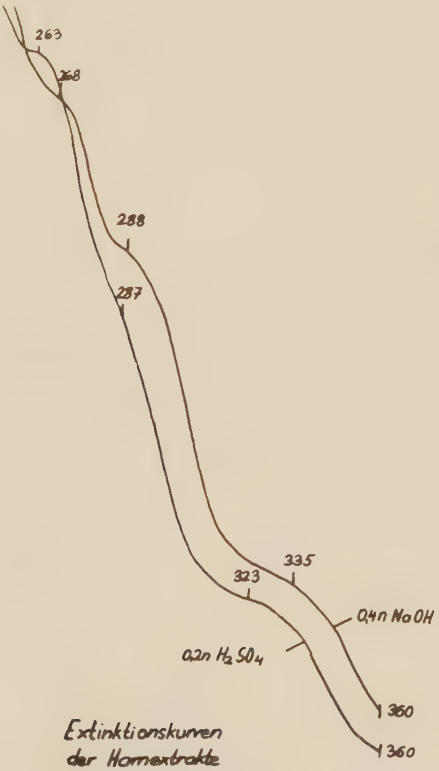
Nach Einnahme von 50 mg Promethazin waren die Absorptionskurven sowohl im sauren als auch im alkalischen Milieu noch einwandfrei zu erkennen, während nach der Bromierung bei dieser Dosierung zum erstenmal keine brauchbare Kurve mehr zu erhalten war.

	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	327;287;265	316;257
0,4 n NaOH	332;294;267	321;259



Extinktionskurven der Harnextrakte nach einmaliger Einnahme von 50 mg Akasil

Nach Einnahme von 25 mg Promethazin zeigte sich trotz der sehr geringen Dosierung die typische Absorptionskurve im sauren und im alkalischen Milieu. Die Maxima und Minima waren aber nicht mehr stark ausgeprägt, sondern gingen ineinander über.



Extinktionskurven der Harnextrakte nach einmaliger Einnahme von 25mg Atasil

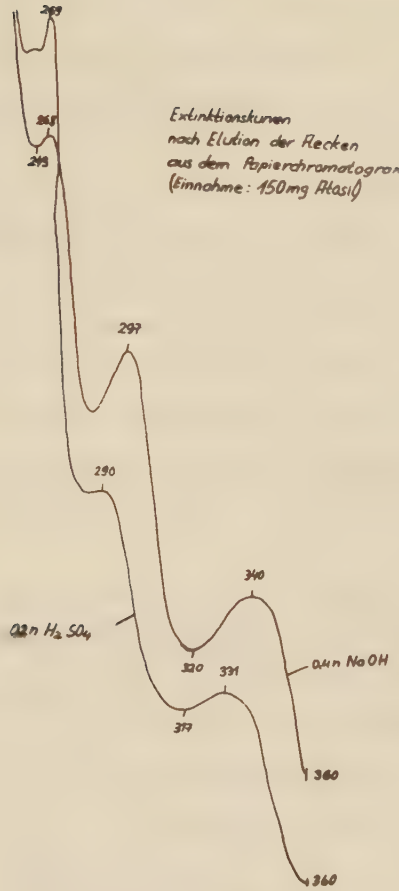
Die Bromierungskurve war uncharakteristisch.

5) Elution der Flecken aus dem Papierchromatogramm und spektrophotometrischer Nachweis

Nach Einnahme von 150 mg Promethazin wurde der Harn nach dem papierchromatographischen Verfahren von Gg.Schmidt extrahiert, der alkalische Extrakt auf das Papier aufgetragen und im sauren Gemisch (n-Butanol : 15% Ameisensäure : Wasser 12:1:7) chromatographiert. In Höhe des nach Besprühen mit Kuniers-Reagenz erschienenen Flecks wurde in vier Parallelstreifen je ein Fleck ausgeschnitten und insgesamt mit 5 cm^3 0,2 n H_2SO_4 eluiert.Dies entsprach nun einem Extrakt aus ungefähr 20 cm^3 Harn. Sodann wurde im Spektrophotometer die Absorptionskurve entsprechend der Methode nach Burger und Berninger bestimmt.
Es ergaben sich im sauren und im alkalischen Milieu die Kurven mit den drei Maxima und Minima, wie sie von den beiden Autoren beschriben und auch bei unseren früheren Versuchen gefunden wurden.
Die Maxima und Minima, die stark ausgeprägt waren, lagen bei folgenden Wellenlängen :

	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	268;290;331	263;285;317
0,4 n NaOH	269;297;340	265;287;320

Nach der Bromierung ergab sich jedoch keine brauchbare Kurve.



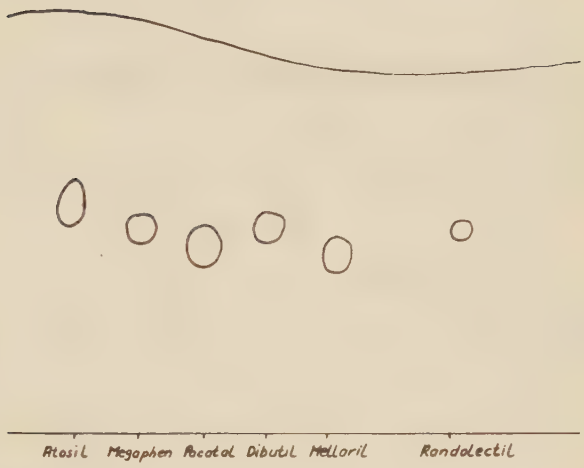
Extinktionskurven
nach Elution der Flecken
aus dem Papierchromatogramm
(Einnahme: 150mg Atasil)

6) Versuche mit Dünnschichtchromatographie

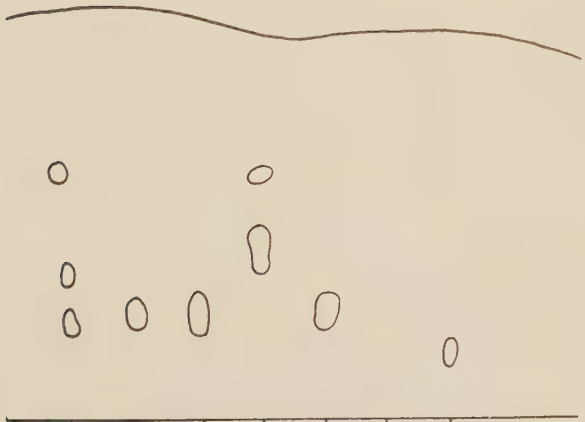
Bei unseren Versuchen verwendeten wir Platten mit Kieselgel-G und Aluminiumoxyd der Fa. Merck.
Auf der Suche nach einem geeigneten Laufmittel trugen wir nur Reinsubstanzen auf, wozu wir je zwei Dragees (50 mg) in 50 cm^3 Wasser auflösten und nach dem Verfahren von Burger und Berninger extrahierten. Der Extraktrückstand wurde in 5 cm^3 n/10 HCl gelöst, alkalisch gemacht und mit etwas Äther ausgeschüttelt. Von der Ätherphase wurde nun mit Hilfe einer Blutzuckerpipette ein Tropfen auf die Platte aufgetragen.
Während wir bei den Aluminiumoxydplatten niemals eine bemerkenswerte Trennung der verschiedenen Phenothiazine bekamen, gelang auf Kieselgelplatten wenigstens eine gewisse Auftrennung.
Folgende Medikamente wurden extrahiert und aufgetragen: Atosil (Promethazin), Megaphen (Chlorpromazin), Pacatal (Mepazin), Dibutil, Mellaril (Thioridazin), Randolectil (Butyrylperazin).
Aus der Vielzahl der Laufmittel, die wir prüften, gaben folgende die besten Ergebnisse:

Laufmittel I	Methanol-2n NH_4OH	(20:1)
Laufmittel II	Butanol-2n NH_4OH	(20:1)
Laufmittel III	Methanol-2n NH_4OH-Dichlordiäthyl-äther	(10:1:10)

Methanol - 2n NH_4OH (20 : 1)



Butanol - 2n NH_4OH (20 : 1)



Methanol - Dichlordiäthyläther - 2n NH_4OH (10 : 10 : 1)

Die Laufzeit betrug eine gute Stunde. Als Sprühreagenz diente nur Palladiumchlorid_.

Wir erhielten folgende Rf-Werte :

	Laufmittel I	Laufmittel II	Laufmittel III
Atosil	0,61 gelb	0,25;0,55;0,72. gelb	0,03;0,20;0,34 0,48.gelborange
Megaphen	0,59 orange	0,3 gelborange	0,71 orange
Pacatal	0,55 braunrot	0,32 rot	0,79 blau,roter Kern
Dibutil	0,62 orange	0,54 violett	0,94 orange
Mellaril	0,54 braun	0,33 rot	0,89 rot,violetter Kern
Randolectil	0,59 rot	0,20 gelb	0,69 orange

Harnextrakte:

50 cm^3 Urin wurde nach Einnahme von 150 mg Atosil oder Megaphen nach dem Verfahren von Burger und Berninger, das die beiden Autoren für die Papierchromatographie und UV-Spektrophotometrie angeben, extrahiert. Der Extraktrückstand wurde in 5 cm^3 0,2 n Salzsäure gelöst, alkalisch gemacht und mit etwas Äther ausgeschüttelt. Die ganze Ätherphase wurde auf die Dünnschichtplatte aufgetragen.
Nach Besprühen mit Palladiumchlorid erschienen auf dem Chromatogramm nur uncharakteristische und unspezifische braune Flecken, die keinesfalls von Phenothiazinen oder ihren Ausscheidungsprodukten herrühren konnten, da Versuche mit Leerharnen dieselben Flecke erbrachten.
Selbst der Harn einer Person, die aus Versehen innerhalb von

3 Stunden 300 mg Megaphen eingenommen hatte und daraufhin schon leichte Vergiftungssymptome wie Tachykardie und Somnolenz zeigte, lieferte auf der Dünnschichtplatte kein deutlich positives Ergebnis. Da Äther verwendet wurde, liegt allerdings die Möglichkeit einer Oxydation unabgebauten Phenothiazins durch Peroxyde in Sulfoxyd nahe.

B) Ergebnisse nach Einnahme von Chlorpromazin (Megaphen)

Eine entsprechende Versuchsreihe führten wir auch mit Proben von Morgenurin nach einer einmaligen Einnahme von Chlorpromazin durch. Vorher wurden immer Proben mit Leerharnen untersucht.

1) Urinfarbtest nach Forrest

Forrest und Mitarbeiter geben mit der Reaktion Nr.1 (FR_1) einen eigenen Test für Chlorpromazin an.

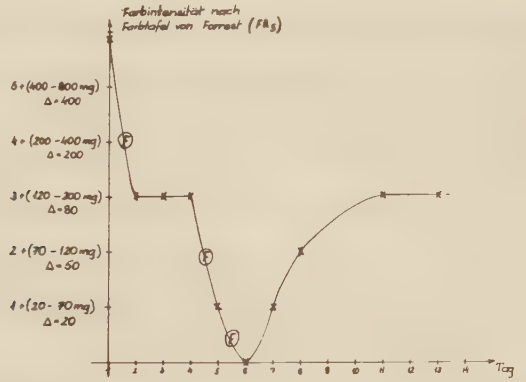
Nach Einnahme von 300 mg Chlorpromazin erbrachte FR_1 eine tiefblaue Färbung (5+), die eine Dosierung von 600 - 800 mg vermuten ließ.

FR_5 , der allgemeine Nachweis für alle Phenothiazine, war gleichfalls stark positiv (5+) und ließ nach der Farbtafel ebenfalls eine höhere Dosierung vermuten.

Auch hier untersuchten wir zunächst die Ausscheidungsdauer bei dieser einmaligen Dosierung von 300 mg.

FR_1 war aber trotz der sehr stark positiven Reaktion des 1. Morgenharnes am 2.Tage schon negativ, während FR_5 ähnlich

wie bei Promethazin , am 12.Tage nach dieser einmaligen Einnahme noch eine deutlich rosa Färbung erbrachte (3+). Die folgende Darstellung zeigt zusätzlich zur langen Ausscheidungsdauer den Einfluß exogener Faktoren, wie z.B. große Flüssigkeitsaufnahme am Abend vorher auf das Ergebnis, wobei zu berücksichtigen ist, daß die Harnmenge stark variierte.



(F) = große Flüssigkeitsaufnahme am Abend vorher

Ausscheidungsdauer und -menge nach einmaliger Einnahme von 300 mg Megaphen (Reaktion nach Forrest FR_5 mit Morgenharn)

Nach Einnahme von 150 mg Chlorpromazin waren sowohl FR_1 als auch FR_5 stark positiv. FR_1 zeigte 3+ (600 - 800 mg) FR_5 sogar 5+ (400 - 800 mg) an.

Nach Einnahme von 75 mg Chlorpromazin erbrachte FR_1 eine

positive Reaktion von 1 + und FR_5 eine positive Reaktion von 2 +. Die erhaltenen Werte stimmten also nach der Farbtafel mit der Dosierung überein.
Bei den nun folgenden Harnproben nach einer Dosierung von 50 und 25 mg Chlorpromazin konnten mit den Urinfarbtests nach Forrest keine positiven Reaktionen erbracht werden.

2) Suchtmittelnachweis für basische Alkaloide nach Cronheim-Ware in der Modifikation nach Weinig-Schmidt.
Nach Einnahme von 300 mg Chlorpromazin ergab sich mit diesem Nachweisverfahren eine tiefblaue Färbung, die wir wieder, um Vergleichsmöglichkeiten zu haben, als 4 + beurteilten.
Nach Einnahme von 150 mg Chlorpromazin ergab sich ebenfalls eine blaue Färbung von ungefähr 3 +.
Nach Einnahme von 75 mg Chlorpromazin ergab das Verfahren eine bläuliche Färbung, die gerade noch als positiv zu verzeichnen war.
Bei den nun folgenden Urinproben nach Einnahme von 50 und 25 mg Chlorpromazin konnte kein positives Ergebnis mehr erbracht werden.

3) Papierchromatographisches Verfahren nach Gg.Schmidt
Ausgegangen wurde wieder von 50 cm^3 Urin, der nach dem schon angegebenen Verfahren extrahiert wurde. Es zeigte sich im Chromatogramm nach Besprühen mit Muniers - Reagenz im

alkalischen Extrakt in keinem Fall ein charakteristischer Flecken, obwohl unter denselben Bedingungen gearbeitet wurde, wie bei den Versuchen mit Urinproben nach Einnahme von Promethazin.

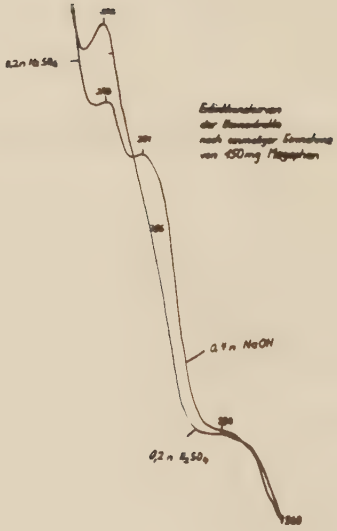
4) UV-Spektrophotometrie nach Burger und Berninger

Spektrophotometrisch untersuchten wir die Urinproben nach Chlorpromazineinnahme unter denselben Bedingungen wie bei den Versuchen mit Promethazin.

Wir nahmen 50 cm³ Harn nach dem Verfahren von Burger und Berninger extrahierten [illegible] im Spektrophotometer die Absorptionskurve bestimmt.

Nach Einnahme von 100 mg Chlorpromazin ergab sich eine Absorptionskurve, an der man die drei typischen Maxima bezw. Minima erkennen konnte, aber sie waren schon weniger ausgeprägt als in der Kurve, die man z.B. nach Einnahme von 25 mg Promethazin erhielt.

	Maximum (nm)	Minimum (nm)
0,2 n H_2SO_4	330;291;272.	286;262.
0,4 n NaOH	333;296;273.	261.


0,2 n H_2SO_4
Endkonzentration der Komponenten nach vereinigen Einwirkung von 450 mg Magaphen
0,1 n NaOH
0,2 n H_2SO_4

Die Bromierungskurve war nicht auswertbar.

Nach Einnahme von 75 mg Chlorpromazin ergab sich keine brauchbare Absorptionskurve mehr, ebenfalls bei den Dosierungen von 50 und 25 mg Chlorpromazin.

Elution der Flecken aus dem Papierchromatogramm und spektrophotometrischer Nachweis war nicht möglich, da weder mit Dunigan-Reagenz noch mit Palladiumchlorid auf den Chromatogrammen ein charakteristischer Fleck erschien.

VII) Diskussion der Ergebnisse

Prothazin

Zusammenstellung der Ergebnisse nach Prothazin-Einnahme

Tabelle siehe nächste Seite.

aufgenommene Menge (mg)	150	125	75	75	50	25
Gew. der Person (kg)	90	90	75	60	75	60
Harn-vol. (cm^3)	200	250	350	150	750	550
erwart. Wert FR_5	3+	3+	2+	2+	1+	1+
erhalt. Wert FR_5	5+	3+	1+	5+!	1+	1+
Differenz	2+	0	1+	3+	0	0
Verf. nach Cronh.-Ware	4+	2+	1+	3+!	-	-
Rf-Werte alk.	0,85	0,83	0,86	0,83	-	-
Verf. n. Schmidt sauer	0,44	0,46	0,45	0,43	-	-
UV-Spekt. Burg.-Bern.	+	+	+	+	+	+
nach Br_2^- Zugabe	+	+	+	+	-	-

Nach Einnahme der von uns gewählten Höchstdosis von 150 mg Promethazin erzielten wir mit allen Nachweisverfahren positive Ergebnisse. Die Reaktion nach Forrest Nr.5 zeigte eine etwas höhere Dosierung an, was durch das relativ geringe Harnvolumen bedingt sein dürfte.

Mit der empfindlichsten Nachweismethode von Forrest (FR_5) konnten 15 Tage nach einer einmaligen Einnahme von 150 mg Promethazin noch Ausscheidungsprodukte im Harn festgestellt werden.

Als die beiden empfindlichsten Nachweismethoden einer einmaligen Phenothiazineinnahme am Tage vorher erwiesen sich bei abnehmender Dosierung die Forrest-Reaktion Nr.5 und die UV-spektrophotometrische Bestimmung nach Burger und Berninger, die bei unserer kleinsten Dosierung von 25 mg Promethazin noch einwandfreie positive Ergebnisse brachten.

Bei dieser geringen Dosierung erscheint aber bei der spektrophotometrischen Bestimmung die Gefahr einer falschen positiven Beurteilung des Ergebnisses viel geringer, wenn nicht gar ausgeschlossen zu sein, als bei der Methode nach Forrest, da ja hier als positive Reaktion nur mehr eine ganz schwach rosa Färbung vorliegt, die eventuell auch von anderen Faktoren kommen könnte und bei einem etwas dunklen Harn auch schwer zu erkennen ist, während die Absorptionskurve noch ihren charakteristischen Verlauf hat.

Vergleicht man aber das erforderliche Harnvolumen,die notwenigen Geräte,den Zeitaufwand und die Einfachheit des Verfahrens beider Methoden,so hat die Methode von Forrest viele Vorteile für sich.

Der Suchtmittelnachweis für basische Alkaloide nach Cronheim-Ware und das papierchromatographische Verfahren nach Gg.Schmidt zeigten sich weniger empfindlich und fielen bei kleineren Dosierungen als 75 mg Promethazin negativ aus.Bei höherer Dosierung erwiesen sie sich aber als sehr brauchbar,wobei das Verfahren von Cronheim-Ware das Ergebnis viel schneller und einfacher bringt,sich aber nicht allein auf Phenothiazine festlegt,während das Verfahren von Schmidt sich auf ein Abbau-und Ausscheidungsprodukt von Promethazin stützt,dessen Rf-Wert nach Besprühen mit Muniers-Reagenz im alkalischen Milieu zwischen 0,83 und 0,86,und im sauren Milieu zwischen 0,43 und 0,46 liegt.

Ob dieses Ausscheidungsprodukt ein nur beim Promethazin-Abbau vorkommendes spezifisches Abbauprodukt von Promethazin ist und sich von anderen Phenothiazinabbauprodukten irgendwie unterscheidet,konnten wir nicht feststellen, da wir mit Harnproben nach Chlorpromazin-Einnahme bei unseren Dosierungen keine mit Muniers-Reagenz anfärbbare Flecke bekamen und uns so die Vergleichsmöglichkeiten fehlten.

Als schnellstes, empfindlichstes und einfachstes Verfahren erwies sich bei unseren Versuchen mit Promethazin also die Methode nach Forrest Nr. 5.

Wenn auch die spektrophotometrische Bestimmung nach Burger und Berninger dieselbe Empfindlichkeit zeigt, so ist dieses Verfahren bei weitem nicht so einfach durchzuführen und mit viel mehr Aufwand an Zeit und Apparatur verbunden.

Spezifisch nur für Promethazin erwies sich kein Nachweisverfahren.

Chlorpromazin

Tabelle siehe nächste Seite.

Zusammenstellung der Ergebnisse nach Chlorpromazin-Einnahme

aufgenommene Menge (mg)	300	150	75	50	25
Gew. der Person (kg)	90	90	70	65	75
Harn-vol. (cm^3)	200	200	250	200	250
erwart. Wert FR_1	4 +	3 +	1 +	1 +	1 +
erhalt. Wert FR_1	5 +	3 +	1 +	-	-
erwa rt. Wert FR_5	4 +	3 +	2 +	1 +	1 +
erhalt. Wert FR_5	5 +	5 +	2 +	-	-
Verf. nach Cronh.- Nore	4 +	3 +	1 +	-	-
Rf-Wert alk.	-	-	-	-	-
Verf. n.sauer Schmidt	-	-	-	-	-
UV- Spekt. n.Berg.-Bern.	+	+	-	-	-
nach Br_2 - Zugabe	-	-	-	-	-

Auch bei unseren Versuchen mit Urinproben nach einer einmaligen Einnahme von Chlorpromazin zeigte sich mit der empfindlichsten Reaktion Nr. 5 nach Forrest nach einer Einnahme von 300mg Chlorpromazin, daß am 15. Tage danach noch Ausscheidungsprodukte im Harn vorhanden waren. Der spezifische Nachweis für Chlorpromazin war weniger empfindlich

und am 2. Tage der Einnahme schon negativ.
Bei Harnproben nach einmaliger Dosierung bei abnehmender Menge zeigten die beiden Forrest - Methoden, FR_1 als spezifischer Nachweis für Chlorpromazin und FR_5 als allgemeiner Nachweis für alle Phenothiazine, bis zu einer Dosierung von 75 mg Chlorpromazin positive Reaktion. Nach einer Dosierung von 50mg und 25 mg Chlorpromazin erbrachten beide Verfahren negative Resultate.
Bis zu einer Dosierung von 75 mg Chlorpromazin sprach auch das Verfahren von Cronheim und Ware an.
Der bei den Versuchen nach Promethazin - Einnahme bis zur kleinsten Dosierung empfindliche Nachweis von Forrest erwies sich also bei Chlorpromazin nicht empfindlicher alsdas Verfahren von Cronheim - Ware, doch stand mit der Forrest - Reaktion Nr. 1 ein Nachweisverfahren zur Verfügung, das verhältnismäßig spezifisch für Chlorpromazin war.

Die spektrophotometrische Bestimmung nach Burger und Berninger, die nach Promethazin - Einnahme bis zur kleinsten Dosierung positiv war, zeigte nach Chlorpromazin - Einnahme nur bei der Höchstdosis von 150 mg eine im sauren und im alkalischen Milieu brauchbare Absorptionskurve, wobei aber die Maxima und Minima schon weniger ausgeprägt waren als bei der Kurve, die sich nach der Einnahme von 25 mg Promethazin ergab.

Das papierchromatographische Verfahren von Gg. Schmidt brachte im Gegensatz zu den Versuchen nach Promethazin-Einnahme bei keiner unserer Dosierungen ein positives Resultat in Form mit Muniers - Reagenz anfärbbarer Flecke.

Chlorpromazin sprach also auf fast alle Nachweisverfahren schlechter an als Promethazin.

VIII) Zusammenfassung

1) Es wurde ein kurzer Überblick über die Phenothiazine seit ihrer Einführung in die Medizin gegeben.
2) Die Pharmakologie, Anwendungsgebiete und Toxikologie wurden kurz gestreift, ebenso der Stoffwechsel und die chemischen Umsetzungen im Organismus bei Mensch und Tier, soweit gesicherte Erkenntnisse darüber vorhanden waren.
3) Verschiedene Nachweisverfahren für Phenothiazine in Urinproben nach Einnahme von Phenothiazinen wurden beschrieben.
4) Bei eigenen Versuchen und Untersuchungen beschränkten wir uns auf zwei Phenothiazinderivate, das Promethazin und das Chlorpromazin.
   Es kamen Urinproben zur Anwendung nach einer einmaligen Einnahme von Promethazin und Chlorpromazin von verschiedenen Personen bei absteigender Dosierung der Medikamente. Die verschiedenen Nachweisverfahren wie :
   der Urinfarbtest nach Forrest,
   der Suchtmittelnachweis für basische Alkaloide nach Cronheim-Ware in der Modifikation nach Weinig-Schmidt,
   die UV-Spektrophotometrie nach Burger-Berninger,

die Elution der Flecken aus dem Papierchromatogramm und spektrophotometrischer Nachweis wurden nach verschiedenen Gesichtspunkten, wie Empfindlichkeit, apparativer Aufwand, Einfachheit des Verfahrens, erforderliches Harnvolumen, Zeitaufwand, Möglichkeiten zur qualitativen Unterscheidung der einzelnen Derivate und halbquantitativer Abschätzung geprüft.

5) In der anschließenden Diskussion wurden die erhaltenen Ergebnisse miteinander verglichen.
Danach zeigte sich, daß Chlorpromazin auf fast alle Nachweisverfahren schlechter ansprach als Promethazin. Dagegen konnte Chlorpromazin von anderen Phenothiazinderivaten leichter differenziert werden.

IX) Literaturverzeichnis

1) Bäumler, I. und Rippstein, S.,
Die Dünnschichtchromatographie als Schnellmethode zur Analyse von Arzneimitteln
Pharmazeutica Acta Helvetiae 36, 382 (1961)

2) Bea ni, L., Pepen, C. und Mannaioni, P.F.
Akute Vergiftung durch Phenothiazinderivate
Archiv für Toxikologie 18, 300 (1959/60)

3) Block, W.
Über den Stoffwechsel von radioaktiven Phenothiazinen
Arzneimittelforschung 11, 266 (1961)

4) Brodie, B.B. und Salzmann, N.P.
Physiological disposition and fate of chlorpromazine and a method for its estimate in biological material
I. Pharmacol. exp. Therapeut. 118, 46 (1956)

5) Burger, E. und Berninger, H.
Zum papierchromatographischen und spektrophotometrischen Nachweis der Phenothiazinderivate unter toxikologischen Bedingungen.
Archiv für Toxikologie 17,77 (1958/59)

6) Cronheim, C. und Ware, P.A.
The Determination and the urinary excretion of 6 - Dimethylamino - 4,4 - diphenyl - 3 - Haptone Hydrochloride (Amidone)
I. Pharmacol. exp. Ther. 92, 98 (1948)

7) Douglas, A.D.M., Beates, T.I.N.
Chlorpromazine as a suicidal agent
Brit. med. I. 1514 I (1957)

8) Eberhard,H. Lerbs,O.W. und Freundt,K.J.

Der Nachweis von psychotropen Phenothiazinderivaten und ihrer Ausscheidungsprodukten mit Hilfe der Dünnschicht-chromatographie

Arzneimittelforschung (Drug. Res.) 13, 804 (1963)

9) Eisdorfer,J.B. und Ellenbogen,W.C.

a chromatographic procedure for separating chlorpromazine derivatives

J. Chromatog. 4, 329 (1960)

10) Forrest,F.M.,Forrest,J.S., Mason,A.S.

Review of a rapid urine test for phenothiazine and related drugs

American Journal of Psychiatry, Vol 118, No 4, oct. 1961

11) Fryde, V.

Pharmakodynamik und Toxikologie des Chlorpromazins

Missbrauch des Medikaments zu Selbstmordversuchen

Zeitschr. f. ges. inn. Med. 18, 119 (1963)

12) Haase,K.H.

Vergiftung durch phenothiazinhaltige Wurmschokolade

Deutsch. Zeitschr. f. ges. gerichtl. Med. 45, 325 (1956)

13) Hoffmann,J. Nieschulz, C. Popendiker, K. u. Tauchert,E.

Über das Sulfoxyd des N-methyl-piperidyl-3-methyl-phenothiazins

Arzneimittelforschung 9, 133 (1959)

14) Jatzkewitz, H.
Ein klinisches Verfahren zur Bestimmung von basischen Suchtmitteln im Harn
H oppe-Seylers Zeitschr. phys. Chemie 292, 94 (1953)

15) Kinberger, B.
Identifizierung von Phenothiazinderivaten im Urin
Nord. psychiat. T. 13, 45 (1959)

16) Kleinsorge, H. Thalmann, K. u. Rössner, K.
Die Ausscheidung des N-methyl-3-phenothiazin beim Menschen
Arzneimittelforschung 9, 121 (1959)

17) Kotionis,A, Z.
Selective Extraction and colorimetric determination of 10-Dialkylaminophenothiazines
Arzneimittelforschung 11, 108 (1961)

18) Liebich
Schnellbestimmung von Arzneimittel in der Apotheke mit der Dünnschichtchromatographie
Deutsche Apotheker Zeitung 99, 1246 (1959)
100, 343 (1960)

19) Luchmann, A.
Nutzen und Gefahren sedativer bzw. hypnotischer Medikamente aus klinischer Sicht

20) Massie, S. P.
Chem. Rev. 49, 36 (1961)
Zit.: Jucker, E.
Fortschritte der Arzneimittelforschung 5, 269-629 (1963)

21) Nadeau, G. u. Sobolewski, G.
Identification et dosage des drogues de la famille des phenothiazines per chromatographie sur papier
J. Chromatog. 2, 544 (1959)
Zit.: Deutsch. Zeitschr. f. d. ges. gerichtl. Medizin 50, 334 (1960)

22) Negwer, M.
Organisch-chemische Arzneimittel und ihre Synonyma
S. 284-285
S. 286-287
Akamedie Verlag Berlin 1959

23) Nürnberg, E.
Dünnschichtchromatographische Untersuchungen einiger pharmazeutisch verwendeter organischer Stickstoffverbindungen
Archiv der Pharmazie 292, 610 (1959)

24) Ottmann, H. U.
Phenothiazinvergiftung bei einer Madenwurmkur
Archiv für Toxikologie 14, 192 (1952)

25) Randerath, K.
Dünnschichtchromatographie
Verlag Chemie 1962

26) Schenker, E. u. Herbst, H.
Phenothiazine und Azaphenothiazine als Heilmittel
Zit.: Jucker, E.
Fortschritte der Arzneimittelforschung 5, 269-629 (1963)

27) Schmidt, G.
Papierchromatographische Vorprobe bei der toxikologischen Harnanalyse
Deutsch. Zeitschr. f. gerichtl. Medizin 49, 259-280 (1959)

28) Stahl, E.
Dünnschichtchromatographie
Springer Verlag 1962

29) Williams, R.T.
Detoxication Mechanisms
The metabolism and detoxication of drugs, toxic substances and other organic compounds
Chapman and Hall Ltd. 663-666 (1959)

30) Wütschke, J.
Akute Intoxikation mit dem Phenothiazinderivat Chlorpromazin
Archiv für Toxikologie 18, 275 (1959/60)

Zum Schluß der Arbeit erlaube ich mir, Herrn
Professor Dr. Dr. E. Weinig für die Überlassung des Themas
meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Privatdozentin
Dr. Dr. M. Geldmacher - v. Mallinkrodt für die zahl-
reichen Anregungen und für die Unterstützung bei der
Durchführung der Arbeit.

L E B E N S L A U F

Name :	Wolfgang W i e s m e i e r
Geboren am :	24. Juli 1938
in :	Geiselgasteig
Namen der Eltern :	Adalbert Wiesmeier, prakt. Arzt und Frau Irmengard Wiesmeier
Staatsangehörigkeit :	deutsch
Schulbildung :	5 Jahre Volksschule in Viechtach und Zenting (Bay. Wald) 9 Jahre Hum. Gymnasium in Eichstätt und Dinkelsbühl
Studiengang :	Studium der Medizin an der Universität Erlangen-Nürnberg : 11 Semester ohne Unterbrechung vom WS 1958 bis zum SS 1964.
Prüfungen :	Abitur am 18. Juni 1958 Vorphysikum im Oktober 1959 Physikum im April 1961 Staatsexamen im Oktober 1964

Erlangen, den Oktober 1964

Buchdruck und Fotodruck: Ludwig Müller, Erlangen, Fahrstraße 5